

**Elektronenmikroskopische und immunhistochemische
Untersuchungen der Lamina propria der Riechschleimhaut
des Hundes.**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Gabriela Maria Gindert
aus
Titisee-Neustadt
München 1988



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Tierpathologie der Universität München
Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Neuropathologie
Vorstand: Prof Dr. E. Dahme

Elektronenmikroskopische und immunhistochemische Untersuchungen
der Lamina propria der Riechschleimhaut des Hundes.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München
von
Gabriela Maria Gindert geb. Keller
aus
Titisee-Neustadt
München 1988

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Prof. Dr. E. Dahme

Korreferent: Prof. Dr. Dr. F. Sinowatz

Tag der Promotion: 29. Juli 1988

Meinen Eltern und Bernd

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
2.	Literaturüberblick	3
2.1.	Lamina propria	3
2.1.1.	Bowmansche Drüsen (Glandulae olfactoriae)	3
2.1.2.	Glatte Muskelzelle	4
2.1.2.1.	Zellkern	5
2.1.2.2.	Plasmalemm	6
2.1.2.3.	Myofilamente	7
2.1.2.4.	Intermediäre Filamente	7
2.1.2.5.	Zellorganellen	8
2.1.2.6.	Funktion der glatten Muskulatur	8
2.1.3.	Nicht-olfaktorische Nerven	9
2.1.3.1.	Nervus trigeminus	9
2.1.3.1.1.	Geschichtliche Bedeutung des N. trigeminus	10
2.1.3.1.2.	Funktion des N. trigeminus	11
2.1.3.1.3.	Atemschutzreflex	13
2.1.3.1.4.	Beeinflußung der Geruchswahrnehmung durch den N. trigeminus	16
2.1.3.1.5.	Neurotransmitter	18
2.1.3.1.6.	Morphologie der Nervenfasern des N. trigeminus	20
2.1.3.2.	Vegetative Innervation	21
2.1.3.2.1.	Parasympathikus	21
2.1.3.2.2.	Sympathikus	22
2.1.3.2.3.	Morphologie der vegetativen Nervenfasern	22

2.2.	Immunhistochemie	25
2.2.1.	Desmin	25
3.	Eigene Untersuchungen	30
3.1.	Material und Methoden	30
3.1.1.	Untersuchungsmaterial	30
3.1.2.	Elektronenmikroskopie	30
3.1.3.	Immunhistochemie der Paraffinschnitte	31
3.2.	Elektronenmikroskopie der Lamina propria	34
3.2.1.	Bowmansche Drüsenzelle	34
3.2.1.1.	Helle und dunkle Drüsenzelle	34
3.2.1.2.	Zellmembran mit Zellverbindungen	39
3.2.2.	Glatte Muskelzelle	43
3.2.2.1.	Zellkern	45
3.2.2.2.	Zellmembran mit Zellverbindungen	45
3.2.2.3.	Myofilamente	46
3.2.2.4.	Zellorganellen	46
3.2.3.	Vegetative Nervenfasern	51
3.2.3.1.	Axon	53
3.2.3.2.	Hüllzellen	54
3.2.3.3.	Peri- und Epineurium	54
3.2.3.4.	Ausschleusung von Transmitter	58
3.2.4.	Nervenfasern des N. trigeminus	60
3.2.4.1.	Axon	60
3.2.4.2.	Hüllzelle	60
3.2.4.3.	Peri- und Epineurium	61
3.3.	Immunhistochemische Untersuchung	62

4.	Diskussion	63
5.	Zusammenfassung	68
6.	Summary	70
7.	Literaturverzeichnis	73
8.	Lebenslauf	89

1. Einleitung

Die Lamina propria der Riechschleimhaut wurde von den Anatomen bisher nur stiefmütterlich behandelt. Sie interessierten sich meist nur für epitheliale Strukturen, um zusammen mit den Physiologen den Riechvorgang zu erforschen.

Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit, die in der Lamina propria vorhandenen Muskel- und Drüsenzellen und Nervenbündel näher zu untersuchen. In diesem Zusammenhang ist besonders die Struktur der einzelnen Zellen und ihre räumliche Lage zueinander von Bedeutung, um Hinweise auf ihre Funktion zu erhalten.

Die Feinstruktur der Muskel- und Drüsenzellen und Nervenbündel wird mit Hilfe der Elektronenmikroskopie untersucht. Von besonderem Interesse ist die Beantwortung der Frage, ob es sich bei den zu untersuchenden Muskelzellen um glatte Muskelzellen oder Myoepithelzellen handelt. Die elektronenmikroskopischen Filamentstudien der Muskelzellen werden durch immunhistochemische Untersuchungen mit Desmin-Antikörpern ergänzt.

Diese Dissertation ist u.a. als Ergänzung zur Dissertation von A. HAFNER, 1987 zu sehen. Sie untersuchte die neuralen Elemente in der Riechschleimhaut des Hundes mit Hilfe des Elektronenmikroskopes und der Immunhistochemie, um dadurch die Histogenese von Riechschleimhauttumoren klären zu können.

Von namhaften Physiologen wurden Versuche unternommen, den funktionellen Zusammenhang zwischen dem System des N. trigeminus und dem Geruchssinn aufzudecken. In dieser Dissertation sind die wichtigsten ihrer Ergebnisse zusammengefaßt.

2. Literaturüberblick

2.1. Lamina propria

Wenn in der Literatur die Morphologie der Riechschleimhaut beschrieben wird, geschieht dies meist nur unvollständig. Meist werden nur das Epithel und die Basalmembran untersucht, die Lamina propria jedoch nur peripher erwähnt.

Die Riechschleimhaut muß ohne echte Submukosa auskommen (MORAN et al., 1982). Im Anschluß an das Epithel, dessen Strukturen unter anderem von HAFNER, 1987 und SEIFERT, 1970 genau beschrieben wurden, folgt -durch eine 100 nm dicke Basalmembran getrennt- die Lamina propria. Als Elemente sind hier zu finden: Blutgefäßzellen, Bindegewebszellen, olfaktorische und vegetative Nervenzellen, Bowmansche Drüsenzellen (SEIFERT: S. 78 ff) und Myoepitheizellen (MORAN et al., 1982).

2.1.1. Bowmansche Drüsen (Glandulae olfactoriae)

Die Glandulae olfactoriae wurden von KÖLLIKER 1855 (zitiert durch SEIFERT, 1969) nach ihrem Entdecker Bowmansche Drüsen genannt (TODD und BOWMAN, 1847).

Es gibt zwei Arten von Drüsenzellen (SEIFERT, 1972) bzw. eine dritte Art, die die Eigenschaften der beiden oben genannten Arten verbindet (PAULSEN, 1886). Die Namen der Zelltypen wurde von der Elektronendichte des Zytoplasmas abgeleitet:

a) heller Zelltyp: Vom Typ entspricht er einer

eiweißsezernierenden Drüsenzelle. Er besitzt einen gelappten Zellkern, einen großen Golgi-Apparat, elektronendichte Sekretgranula, und er liegt am Drüsenschlauch.

b) dunkler Zelltyp: Hier findet man im Gegensatz zum oben genannten Typ einen runden Zellkern und ausgedehntes feintubuläres agranuläres endoplasmatisches Retikulum. Diese Zellart liegt vor allem in riechepithelnahen Bereichen des Drüsenschlauches.

Die beiden unterschiedlichen Zelltypen produzieren vermutlich unterschiedliche Arten von Sekret.

Das Sekret der Bowmanschen Drüsenzellen wird von BOJSEN-MØLLER, 1964 als mukös von MORAN et al., 1982 als serös beschrieben.

Das Sekret wird mittels Krinozytose aus der Drüsenzelle ausgeschleust. In einer Membran eingeschlossen wird es bis zum Plasmalemm transportiert.

Dort verschmilzt die Membran der Sekretvakuole mit dem Plasmalemm und es wird eine Öffnung geschaffen, durch die das Sekret in den Drüsenausführungsgang entlassen wird. Es besitzt dabei keine Membranhülle mehr (LEONHARDT: S. 76 ff).

2.1.2. Glatte Muskelzelle

Als einzige Autoren erwähnen MORAN und seine Mitarbeiter 1982 Myoepithelzellen an einem Ausführungsgang einer Drüsenzelle in der Lamina propria der Riechschleimhaut, ohne jedoch auf Funktion, Morphologie und Lage zu Drüsenzellen näher einzugehen.

Dies zu untersuchen soll Gegenstand dieser Dissertation sein.

Weil organspezifische Literatur zum Vorkommen von Muskelzellen in der Riechschleimhaut fehlt, wird im Folgenden allgemeine Literatur über glatte Muskelzellen zitiert, die auch für die im Kapitel 3.2.2. beschriebene glatte Muskelausstattung der Riechschleimhaut zutrifft.

Wegen der von MORAN aufgestellten Behauptung, es handele sich bei den in der Riechschleimhaut gefundenen Strukturen um Myoepithelzellen, werden deren morphologische Charakteristika ebenfalls kurz erläutert.

Im Unterschied zur Skelettmuskulatur besitzt die glatte Muskulatur -zu der das Myoepithel gerechnet wird- keine Querstreifung.

Myoepithelzellen findet man im Körper in Milch-, Tränen-, Ceruminal- und Speicheldrüsen (BARGMANN: S. 89 ff)

Eine glatte Muskelzelle ist je nach Kontraktion 50 bis 200 μm lang und 5 bis 15 μm breit (KRSTIC: S. 240 ff).

2.1.2.1. Zellkern

Der Zellkern ist stäbchenförmig, kann aber bei Kontraktion der Zelle korkenzieherförmige Gestalt annehmen (LEONHARDT: S. 174 ff). Seine Länge beträgt 10 bis 25 μm . Der stellenweise eingekerbte Kern besitzt einen deutlichen Nukleolus.

Bei aktivitätsbedingter Hypertrophie der Muskelzelle kann auch der Kern hypertrophieren. Die Kern-Plasmarelation bleibt jedoch erhalten (BARGMANN: S. 153 ff).

2.1.2.2. Plasmalemm

Das Plasmalemm der glatten Muskelzelle ist mit anderen Muskel- oder Drüsenzellen durch Desmosomen oder Nexus (Gap junctions) verbunden. Über die Gap junctions können elektrische Impulse von einer Muskelzelle auf eine benachbarte weitergeleitet werden und führen zu einer einheitlichen Kontraktion des glatten Muskelgewebes (LEONHARDT: S. 177 ff; KRSTIC: S. 246 ff).

An bis zu 45% der Oberfläche des Plasmalemm kommen mikropinozytotische Vesikel (Caveolae intracellulares) vor. Diese 70 bis 150 nm im Durchmesser großen, flaschenförmigen Einstülpungen des Plasmalemm stehen räumlich und funktionell in enger Verbindung mit dem endoplasmatischen Retikulum, das Ca^{++} -Ionen abgibt und somit für die Kontraktion der Muskelzelle verantwortlich ist (BARGMANN: S. 150 ff). Die Caveolae intracellulares verringern den Widerstand der Zellmembran (KRSTIC: S. 248 ff)

Osmiophile, feingranulierte Verdichtungen, sogenannte Befestigungsplatten (dense plaques) aus dem Protein Aktinin findet man nur an Stellen, wo keine mikropinozytotischen Vesikel am Plasmalemm vorkommen (KRSTIC: S. 246 ff).

An das Plasmalemm schließt außerhalb der Zelle eine Basallamina an. Glatte Muskelzellen besitzen eine eigene Basallamina um die Zelle, während Myoepithelzellen innerhalb der Basallamina der Epithelzelle liegen (KRSTIC: S. 252 ff).

2.1.2.3. Myofilamente

Man kann zwei Arten von Filamenten beobachten, die nach ihrem Durchmesser eingeteilt werden:

a) Dicke Filamente mit 13 bis 17 nm Durchmesser und einer Länge von mehr als 1 μm bestehen aus dem Protein Myosin (BARGMANN: S. 151 ff; KRSTIC: S. 244 ff) .

b) Dunne Filamente, die aus Aktin bestehen, 3 bis 8 nm Durchmesser besitzen, sind an den Befestigungsplatten verankert (BARGMANN: S. 151 ff : KRSTIC: S. 244 ff).

Auch für die glatte Muskelzelle gilt die sogenannte "Gleittheorie", wonach Aktinfilamente zwischen die Myosinfibrillen gleiten und so die Verkürzung der Muskelzelle bewirken (BARGMANN: S. 161 ff)

2.1.2.4. Intermediäre Filamente

In glatten Muskelzellen bestehen die 10 nm im Durchmesser zählenden intermediären Filamenten aus dem Protein Desmin.

Desmin ist nicht für die Kontraktion der Muskelzelle verantwortlich, sondern bildet ein intrazelluläres Zytoskelett, das die Befestigungsplatten des Plasmalemmas und des Zytoplasmas miteinander verbindet (LAZARIDES, 1980: SMALL und SOBIESZEK, 1977: KRSTIC: S. 244 ff). Die feingranulierten 3 μm langen, ungefähr 1-3 μm voneinander entfernten Befestigungsplatten sind

der längeren Zellachse der Muskelzelle parallel gelagert (KRSTIC: S. 250 ff). Die Befestigungsplatten des Plasmalemmas und des Zytoplasmas entsprechen den Z-Streifen der quergestreiften Muskulatur (KRSTIC: S. 244 ff). Weitere Informationen über Desmin enthalten die Abschnitte 2.2.1. und 3.1.3..

2.1.2.5. Zellorganellen

In der Nähe der myofilamentfreien Kernpole liegen freie Ribosomen. Golgi-Apparat. Mitochondrien. Lipofuszin enthaltende Zytosomen und vereinzelt Glycogen (BARGMANN: S. 150 ff; KRSTIC: S. 244 ff).

Das endoplasmatische Retikulum findet man als kleine Säckchen am Zellrand. Über seine Funktion als Ca^{++} -Ionen-Speicher während der Erschlaffung wird diskutiert (KRSTIC: S. 244; BARGMANN: S. 150).

2.1.2.6. Funktion der glatten Muskulatur

Die Kontraktilität von Gewebe ist nicht unbedingt an eine Muskelzelle gebunden. So konnten FRENCH, 1985 und WATANABE et al., 1985 die Kontraktion von Hepatozyten unter dem Einfluß von Aktin und Ca^{++} -Ionen nachweisen.

Für amoeboide Bewegungen oder intrazelluläre Bewegungen (Vesikeltransport) in Thrombozyten, Makrophagen, Drüsenzellen und Tumorzellen können Aktin und Myosin verantwortlich sein (LEONHARDT: S. 39 ff).

Die glatte Muskulatur muß zusammen mit dem sie umgebenden Gewebe

gesehen werden. Durch die Verformung des Zelleibes bei Kontraktion werden automatisch durch Zellkontakte mit der Muskelzelle verbundene Zellen in ihrer räumlichen Lage verändert (BARGMANN: S. 152 ff).

Die glatte Muskulatur verfügt über eine aktive Dauerspannung, die ohne Ermüdung, Aktionsströme und Stoffwechselsteigerungen aufrecht erhalten werden kann (BARGMANN: S. 148 ff).

2.1.3. Nicht-olfaktorische Nerven

2.1.3.1. Nervus trigeminus

Der V. Gehirnnerv, der aus dem ersten embryonalen Kiemenbogen entsteht, innerviert die Riechschleimhaut als Nervus ethmoidalis rein sensibel (NICKEL et al.: Nr. IV., S. 254 ff).

Die Bedeutung des N. trigeminus für die olfaktorische und sensible Wahrnehmung wurde bei Probanden untersucht, denen der Nerv einseitig durch Tumoren verloren gegangen war (CAIN, 1974). Versuchstieren wurde der Nerv durchtrennt oder durch Narkotika die Weiterleitung blockiert (ALLEN, 1937; ANDERSEN, 1953; MCRITCHIE und WHITE, 1973; KULLE und COOPER, 1975; STONE et al., 1966).

Vertrat man in den dreißiger Jahren dieses Jahrhunderts noch die Auffassung, daß es rein olfaktorisch und rein trigeminal reizende Chemikalien gäbe (ALLEN, 1937), ist man nach entsprechenden Untersuchungen zu der Auffassung gelangt, daß die Erregung des

N. trigeminus von jedem chemischen Stimulus bei entsprechend hoher Konzentration ausgehen kann (ANDERSEN, 1953; CAIN, 1974; PRAH und BENIGNUS, 1984).

Schon 1962 stellte DAWSON fest, daß das subjektive Kriterium "Iritabilität" nicht länger zur Einteilung in "olfaktorische" und "trigeminale" Reize dienen kann.

2.1.3.1.1. Geschichtliche Bedeutung des N. trigeminus

Der N. trigeminus wurde über Jahrhunderte hinweg als ein Nerv betrachtet, der alleine die Riechschleimhaut innerviert (de DIEMERBROECK und ISBRANDUS, 1672; MERY, 1645-1722; zitiert durch SEIFERT, 1969).

SCARPA (1789, 1792, 1800) konnte durch Präparation den N. olfactorius in der Riechschleimhaut nachweisen; auch der N. trigeminus wurde von ihm, TENNER (1777) und CUVIER (1799-1805) als Bestandteil der Riechschleimhaut beschrieben (zitiert durch SEIFERT, 1969).

Noch 1824 war MAGENDIE der Auffassung, daß der N. trigeminus der eigentliche Geruchsnerv sei, die Bedeutung der Nervi olfactorii war noch unklar (zitiert durch SEIFERT, 1969).

RAPP kam 1832 zu dem Ergebnis, daß sowohl der N. olfactorius als auch der N. trigeminus am Geruchssinn beteiligt sind (zitiert durch SEIFERT, 1969).

1892 entdeckte von BRUNN Nervenfasern im Riechepithel, von denen er einen trigeminalen Ursprung annahm und die nach ihm benannt wurden (zitiert durch P.P.C. GRAZIADEI, 1973).

Auch der als Dichter und Dramatiker hinreichend bekannte GEORG BÜCHNER beschäftigte sich mit dem N. trigeminus im Rahmen seiner Dissertation und gleichzeitigen Habilitationsschrift: "Mémoire sur le système nerveux du barbeau". Er präparierte die Gehirnnerven von Barben und stellte einen funktionellen Zusammenhang zwischen dem N. vagus und dem N. trigeminus her. Der N. vagus verhalte sich in der Brust- und Bauchhöhle wie der N. trigeminus zur Nasen- und Mundhöhle. Der Trigeminus sei ein Vagus höherer Art (zitiert durch DOERR, 1987).

2.1.3.1.2. Funktion des N. trigeminus

Die wichtigste Aufgabe des V. Gehirnnerven in der Riechschleimhaut für den Körper ist die Wahrnehmung von ätzenden, kitzelnden, stechenden, scharfen (im Sinne von brennend wie Capsaicin, der Bestandteil der Chilischote), kalten, warmen oder schmerzhaften Eindrücken (CAIN, 1974; SILVER und MARUNIAK, 1981).

Diese Eindrücke werden reflektorisch verarbeitet und der sogenannte "Atemschutzreflex" schützt den Körper durch zeitweilige Einstellung der Atemtätigkeit, Nasenschleimproduktion, Engerstellung der Nasenlöcher, Glottisschluß, Bradykardie, Erhöhung des Blutdruckes vor weiterer schädigender Exposition von Dämpfen (JAVORKA und TOMORI, 1972; MCRITCHIE und WHITE, 1974; ANDERSEN, 1953; SILVER und MOULTON, 1982; CAIN, 1974).

CAIN wies in seiner Veröffentlichung 1974 noch auf eine weitere

Funktion des N. trigeminus im Körper hin. In seinen Versuchen zur Adaptation an Gerüche mit einseitig Trigeminus-lädierten Probanden fand er heraus, daß die geschädigte Seite größere Adaptationsfähigkeit zeigte als die gesunde. Er schloß daraus, daß der N. trigeminus die Adaptation auf Gerüche mit hoher und gemäßigter Intensität reduziert.

Bei menschlichen Anosmatikern konnten Versuche belegen, daß sie mit Hilfe des N. trigeminus in der Lage sind, Gerüche zu unterscheiden (DOTY, 1975; DOTY et al., 1978).

Chemisch ähnliche Gerüche wie Butyl- und Pentylacetat konnten von anosmotischen Tauben jedoch nicht unterschieden werden (WALKER et al., 1979).

Für die Anosmatiker in Dotys Versuchen war das Gefühl "angenehm" negativ korreliert mit der Intensität, das bedeutet, je intensiver ein Geruch auftrat, desto unangenehmer wurde er empfunden.

Chemische Analysen der Stoffe, die besonders gute Trigeminusreize darstellen, zeigten, daß ihre Reaktionszentren gute Affinität zu SH-Gruppen von Proteinen aufweisen. z.B. Kohlenstoffdoppelbindungen oder Halogengruppen (DOTY et al., 1978; ALARIE, 1973).

HUGHES und MAZUROWSKI (1962 a und b) brachten die Reizung des N. trigeminus mit niedermolekularen chemischen Substanzen in Zusammenhang.

2.1.3.1.3. Atemschutzreflex

Der N. trigeminus schützt den Körper vor scharfen, beißenden Gerüchen oder mechanischer Schädigung durch reflektorische Einschaltung des sogenannten "Atemschutzreflexes" (SILVER und MOULTON, 1982; ANDERSEN, 1953; JAVORKA und TOMORI, 1972; STONE et al., 1966; MCRITCHIE und WHITE, 1973; CAIN, 1974).

Versuche von STONE et al., 1966 zeigen, daß das Abwehrverhalten auf Gerüche bei unversehrten Kaninchen verschwindet, wenn die Funktion des N. trigeminus durch "Lokalanaesthetika oder Neurektomie außer Kraft gesetzt wird. Die Aktivität im Bulbus olfactorius bleibt erhalten.

Dies beweist: das Tier kann weiterhin riechen und der Atemschutzreflex ist eine Antwort auf trigeminale Reizung.

Wird der Körper einem meist als unangenehm empfundenen Geruch ausgesetzt, wird dieser durch den N. trigeminus weitergeleitet und reflektorisch die Atemfrequenz reduziert. Weitere Reaktionen auf den Reiz sind eine erhöhte Nasenschleimproduktion und eine Veränderung der Nasenöffnung (ALARIE, 1966; ALLEN, 1929). Soweit zu den Veränderungen an der Nase.

Im Gesamtorganismus wird als Antwort auf ätzende Dämpfe der Blutdruck erhöht. Es tritt eine Bradykardie ein (ALLEN, 1929). Ferner erfolgt ein Glottisschluß (JAVORKA und TOMORI, 1972). Auch Aversionsreaktionen können ausgelöst werden (STONE et al., 1966).

ANDERSEN stellte 1953 in Versuchen an Kaninchen und Katzen fest, daß die oben genannten Erscheinungen und spontane Aktionspotentiale an den Bein- und accessorischen Atemmuskeln (Beobachtungen von FRANKENHAEUSER und LUNDERVOLD, 1949) verschwanden, wenn der N. trigeminus beidseitig durchtrennt wurde. Bei einseitiger Durchtrennung blieb der "Atemschutzreflex" erhalten.

Er wertete dies als Beweis dafür, daß der N. trigeminus die Hauptafferenz für die sensible Wahrnehmung ist, nachdem bei Affektionen des Bulbus olfactorius keinerlei Veränderungen der oben genannten Parameter aufgetreten waren.

MCRITCHIE und WHITE untersuchten 1973 inwieweit die Reflexe Bradykardie, Bluthochdruck und Reduktion der Atemfrequenz bei Exposition von Dämpfern vom N. trigeminus, N. olfactorius, vom Carotissinus oder Glomus aorticum beeinflußt werden.

Der N. trigeminus wird als verantwortlich für die Induktion und Aufrechterhaltung der Reduktion der Atemfrequenz gesehen. Die Dauer der Reduktion der Atemfrequenz wird hauptsächlich vom Carotissinus und zum geringen Teil vom Glomus aorticum geregelt. Der N. trigeminus ist auch hauptsächliche Ursache für die Verlangsamung der Herzfrequenz, wobei es jedoch Interaktionen mit dem Carotissinus und dem Glomus aorticum gibt.

Alleine ist jedoch der N. trigeminus verantwortlich für die Erhöhung des arteriellen Blutdrucks.

Die Dauer des "Atemschutzreflexes" hängt von der Stärke der

Stimulation der trigeminalen Nervenenden ab, die mit den Chemorezeptoren im Blut, die Hypoxie und Hyperkapnie überwachen, in Verbindung stehen und bei Sauerstoffbedarf die Atmung wieder in Gang setzen.

Die zentralen Verschaltungen dieses Reflexes sind unbekannt.

JAMES und DALY machten 1969 eine direkte zentrale Verschaltung des N. trigeminus und des N. olfactorius mit dem kardiainhibitorischen beziehungsweise vasokonstriktorischen Zentrum in der Medulla oblongata dafür verantwortlich, daß beim "Atemschutzreflex" eine Bradykardie beziehungsweise Bluthochdruck auftritt, wenn ätzende Dämpfe die Nasenschleimhaut irritieren. Die Veränderungen der Blutzusammensetzung führen dann zur Reizung von Chemorezeptoren. Die Blutdruckerhöhung erfolgt reflektorisch durch Vasokonstriktion nach Reizung der Druckrezeptoren.

Diese Blutdruckerhöhung wurde von JAVORKA und TOMORI, 1972 untersucht. Der Bluthochdruck konnte direkt durch die adrenergen Alpharezeptorenblocker Phenoxybenzamin und DH-Ergotoxin und indirekt durch das Sympatholytikum Guanethidin blockiert werden. Die durch den "Atemschutzreflex" ausgelösten Körperveränderungen wurden durch die Sympatholytika aufgehoben und folgende Mechanismen als Ursache für die Bradykardie bei Reizung des N. trigeminus von CORRIOL et al., 1966 und JAMES und DALY, 1966 angenommen:

a) reflektorische Stimulation des kardiainhibitorischen Zentrums in der Medulla oblongata

b) Stimulation der Chemorezeptoren durch veränderte Blutzusammensetzung

c) ungenügende Herzfüllung infolge intrathorakaler Druckänderung

d) Stimulation der Druckrezeptoren im Carotissinus und der Aorta durch reflektorische vasokonstriktorische Reaktion

Hypothese c und d scheinen nach Ansicht von CORRIOL et al., 1966 am wahrscheinlichsten zu sein, da FOLKOW et al., 1965 zu den gleichen Ergebnissen bei Untersuchungen einer beim Tauchen durch Luftanhalten auftretenden Bradykardie gekommen sind.

2.1.3.1.4. Beeinflußung der Geruchswahrnehmung durch den N. trigeminus

Schon 1912 stellte PARKER den engen Zusammenhang zwischen den Wahrnehmungssystemen der Nase her, indem er den Begriff "Geruch" spezialisierte und die Wahrnehmung mit der Nase um den Ausdruck "common chemical sense" erweiterte (PARKER, 1912 und 1922).

Er bezeichnete den Geruch als nasale Chemorezeption, die die Kombinationen oder Interaktionen von Geruchswahrnehmung (durch den N. olfactorius) und allgemeiner chemischer Wahrnehmung (durch den N. trigeminus) als auch die Stimulation der Chemorezeptoren des vomeronasalen und Septalorgans darstellt.

HUGHES und MAZUROWSKI (1962 a und b) konnten einen

inhibitorischen Effekt von scharfen, penetranten Gerüchen (z.B. Ethylacetat) mit niederem Molekulargewicht auf die Hintergrundaktivität des Bulbus olfactorius nachweisen, während "angenehme" Gerüche (z.B. ätherische Öle) Exzitationen auslösten.

KULLE und COOPER (1975) zeigten in ihren Versuchen, daß starke olfaktorische Reize (z.B. Amylalkohol) von starken trigeminalen Reizen inhibiert werden können, und daß die negative Interaktion mit Konzentration und Dauer des trigeminalen Reizes korreliert ist.

Durch die Aktivität des N. trigeminus kann reflektorisch die Formatio reticularis aktiviert werden, die ihrerseits den Bulbus olfactorius beeinflussen kann (KERR und HAGBARTH, 1955; STONE et al., 1966; STONE et al., 1968; STONE und REBERT, 1970)

Schon 1868 fand BAIN, daß wenn Kohlensäure einen Geruch begleitet, die Geruchswahrnehmung blockiert ist. An diese Wahrnehmungen erinnerten sich 1980 CAIN und MURPHY und konnten die von BAIN erzielten Ergebnisse bestätigen. Es gibt also inhibitorische Interaktionen zwischen dem N. olfactorius und dem N. trigeminus.

Mit dichorhinischer Versuchsanordnung konnten die beiden Wissenschaftler zentrale Verschaltungen zwischen den beiden Systemen feststellen.

Beeinflußung der Geruchswahrnehmung kann durch Veränderungen im Körper im Zuge des "Atemschutzreflexes" stattfinden z.B. durch

Verringerung der Atemfrequenz (ALLEN. 1977; ALARIE. 1966; JAMES und DALY. 1969).

Durch die Stimulation des N. trigeminus in der Riechschleimhaut wird der Speichelfluß und dadurch die Geschmackswahrnehmung beeinflusst (ELSBERG et al., 1942; SILVER und MARUNIAK. 1981).

2.1.3.1.5. Neurotransmitter

Als ein Neurotransmitter des N. trigeminus wurde Substanz - P festgestellt (SILVER et al., 1984). Im N. olfactorius konnte die Substanz als Transmitter ausgeschlossen werden.

Das Peptid hat im zentralen und peripheren Nervensystem eine weite Verbreitung, vor allem in primären sensorischen Neuronen (OTSUKA und KONISHI, 1977) deren Zellkörper in der dorsalen Wurzel und im trigeminalen Ganglion liegen.

Untersuchungen von PAPKA und MATULIONIS, 1983 an der Riechschleimhaut kamen zu dem Schluß, daß Substanz-P-enthaltende Nervenfasern vor allem um die Blutgefäße und die Bowmanschen Drüsenzellen herum zu finden seien.

Schon LEMBECK und HOLZER, 1979 vermuteten, daß Substanz-P die Vasodilatation im Gewebe ausmacht. PAPKA / MATULIONIS (1983) und BOUVET et al., 1987 nahmen die Regulation der Sekretion der Bowmanschen Drüsenzellen durch Substanz-P an.

Die Speicher des Transmitters werden entleert, wenn Capsaicin -der scharfe Bestandteil der Chilischote- wahrgenommen wird. Deshalb kann der Körper dann für einige Zeit keine anderen trigeminalen Reize wahrnehmen (PAPKA und MATULIONIS, 1983). Außerdem wird der "Atemschutzreflex", der durch scharfe, beißende Gerüche ausgelöst wird, aufgehoben (SILVER et al., 1984). Da der N. trigeminus die Geruchswahrnehmung des N. olfactorius negativ beeinflusst, wird durch den Trigemini-blocker Capsaicin die Geruchswahrnehmung intensiviert.

Durch die Reizung des N. trigeminus durch unangenehme Gerüche, darauffolgender Ausschüttung von Substanz-P mit reflektorischer Freisetzung von endogenen Opioiden, läßt sich erklären, warum ein primär "unangenehmer" Geruch (z.B. Tabakrauch) sekundär als angenehm empfunden wird und zur Sucht führt (ANDERSEN et al., 1978).

Arbeiten von ISHII und TORIYAMA, 1972 kamen im Gegensatz zu der oben genannten von PAPKA und MATULIONIS, 1983 zu dem Schluß, daß es sich bei den Nerven, die die Blutgefäße und Drüsen in der Nasenschleimhaut versorgen, nicht um den N. trigeminus handeln kann.

Bei den Untersuchungen, die die Verteilung der Acetylcholinesterase in der Nasenschleimhaut zum Thema hatten, wurde gezeigt, daß um die Blutgefäße und Drüsen lebhaftere Aktivität besteht, was nicht für die Innervierung durch den N. trigeminus spricht, weil dessen Aktivität nur mäßig acetylcholinesterase-positiv ist.

2.1.3.1.6. Morphologie der Nervenfasern des N. trigeminus

Die Morphologie des N. trigeminus entspricht der anderer myelinhaltiger, peripherer Nerven.

Dies bedeutet, daß ihre Schwannzelle eine Myelinscheide aus konzentrisch angeordneten Protein- und Lipidmembranen um ein Axon herum bildet. Die Schwannzelle mit ihren Organellen liegt dann siegelringartig an die Myelinscheide geschmiegt (KRSTIC: S. 336 ff).

Die Myelinscheide wirkt als Isolator für das Membranpotential, das sich an der Zellmembran der Nervenzelle aufbaut. Nur an den Ranvierschen Schnürringen, wo die Myelinscheide unterbrochen ist, kann ein Aktionspotential aufgebaut werden. Die Erregung wird saltatorisch fortgeleitet. Dies wirkt sich vor allem auf die Leitungsgeschwindigkeit aus: sie ist erheblich schneller als bei marklosen Nerven (LEONHARDT: S. 217 ff).

Die Schwannzelle wird von einer Basallamina umgeben. Mehrere myelinisierte Nervenfasern werden von Kollagen und Fibrozyten, dem Endoneurium zusammengehalten und gestützt (KRSTIC: S. 336 ff).

Ein solches Nervenbündel wird von einem Perineurium umgeben. Seine Zellen sind zwiebelschalenartig angeordnet und miteinander über Zonulae occludentes und Desmosomen verbunden. Jede Zelle des Perineuriums besitzt eine eigene Basallamina. Zwischen den Perineuralzellen befinden sich Kollagen- und Elastinfasern. An den Perineuralzellen fällt vor allem ihr Reichtum an mikropinozytotischen Vesikeln auf (KRSTIC: S. 360 ff).

Nach außen wird das Perineurium von den Kollagenfasern und

Bindegewebszellen des Epineuriums begrenzt (KRSTIC: S. 360 ff).

Im Axon, den Dendriten und dem Zelleib der Nervenzelle fallen Neurofibrillen auf (BARGMANN: S. 183 ff). Sie bestehen aus Neurotubuli mit einem Durchmesser von 20 - 30 nm oder Neurofilamenten mit einem Durchmesser von 6 - 10 nm. Die Neurofibrillen sind für den Stofftransport im Zytoplasma zuständig (KRSTIC: S. 330 ff).

Neben diesen besonderen Strukturen enthalten die Nervenfasern Mitochondrien (BARGMANN: S. 179 ff).

2.1.3.2. Vegetative Innervation

2.1.3.2.1. Parasympathikus

KULLE und COOPER (1975) vermuten, daß die Änderungen, die nach Reizung des N. trigeminus auftreten, durch eine trigeminal-vagale Reflexverschaltung geregelt sind, die nach Stimulation der Rezeptoren eintritt.

ISHII und TORIYAMA (1972) fanden bei ihren Untersuchungen der Acetylcholinesterase-Aktivität der vasomotorischen und sekretorischen Bestandteilen der Nase heraus, daß die Nasendrüsen von postganglionären, parasympathischen Nervenfasern innerviert werden, die im Ggl. sphenopalatinum verschaltet sind. Diese Verschaltungen können nicht trigeminalen Ursprungs sein, da dieser Nerv mäßig acetylcholinesterasepositiv ist, die Strukturen um die Drüsen jedoch starke Reaktionen mit Acetylcholinesterase-Antikörpern zeigten.

Die Sekretion der Drüsen soll nach ISHII. 1970 über die Dilatation der Blutgefäße angeregt werden. ausgelöst durch parasympathische Impulse.

2.1.3.2.2. Sympathikus

Der Sympathikus übt durch Vasokonstriktion einen hemmenden Einfluß auf die Sekretion der Drüsen aus. Bei gleichzeitiger Stimulation von Sympathikus und Parasympathikus überwiegen die vasokonstriktorischen also sympathischen Einflüsse über die parasympathischen vasodilatatorischen (MALCOMSON, 1959).

Untersuchungen von JAVORKA und TOMORI. 1972 verifizierten die Vermutung, daß das Auftreten der Hypertension im Zuge des "Atemschutzreflexes" nach Reizung des N. trigeminus durch den Sympathikus vermittelt wird.

2.1.3.2.3. Morphologie der vegetativen Nervenfasern

Die Nervenfasern des Parasympathikus und des Sympathikus können morphologisch nicht unterschieden werden. Desgleichen ist es nicht möglich. afferente von efferenten Fasern zu differenzieren (KRSTIC: S. 336 ff).

Vegetative Nervenfasern lassen sich anhand ihrer Hüllzellen. den polyaxonalen Remakzellen. von sensiblen bzw. motorischen sowie von olfaktorischen Nervenfasern unterscheiden.

Wie der Name "polyaxonal" schon sagt. liegen mehrere Axone in

einer Hüllzelle eingebettet. mit der Basallamina durch ein Mesaxon verbunden. Sie gehören zum Typ der "marklosen" Nervenfasern. d.h. die Hüllzelle umwickelt das Axon nicht mit einer Myelinscheide. Dieser Fakt ist wichtig für die Erregungsleitung. Sie ist demzufolge auch nicht saltatorisch sondern kontinuierlich (KRSTIC: S. 294 ff; BARGMANN: S. 173 ff; LEONHARDT: S. 204 ff).

Für Endo- Peri- und Epineurium der vegetativen Nervenfasern gilt das in Abschnitt 2.1.3.1.6. Gesagte.

Die myoneuronale Synapse vegetativer Nervenzellen stellt eine Auftreibung des Axonendes dar, die an der praesynaptischen Membran mit 50 - 80 nm großen Transmittervesikeln gefüllt ist. Die Hüllzelle verjüngt sich in Richtung auf die Synapse immer mehr und geht praesynaptisch schließlich ganz verloren. Da synaptische Distanzen von 50 - 300 nm bei der Überbrückung der Transmittersubstanz vorkommen können, spricht man von Synapsen "à distance" (LEONHARDT: S. 229 ff). Dadurch wird die Transmitterwirkung diffus auf das umgebende Gewebe verteilt (BARGMANN: S. 196 ff). Engere Synapsenzwischenräume kommen vor. Auch Synapsen "en passant" werden beobachtet. Es handelt sich dabei um mehrere hintereinandergeschaltete Axonverdickungen, von denen die Transmittervesikel an das umgebende Gewebe abgegeben werden (KRSTIC: S. 368 ff; BARGMANN: S. 196 ff).

Die Transmitter der Axonendigungen sind entweder Noradrenalin in kleinen elektronendichten Bläschen oder Dopamin, das in größeren elektronendichten Vesikeln vorkommt. Die cholinergen Transmittervesikel erscheinen elektronenoptisch leer

(BARGMANN: S. 196 ff; KRSTIC: S. 368 ff).

In den Axonendstücken kommen als Zellorganellen außer Transmittervesikeln Mitochondrien und glattes endoplasmatisches Retikulum vor (KRSTIC: S. 294 ff).

2.2. Immunhistochemie

Die Immunhistochemie macht sich die Eigenschaft des Körpers zunutze, auf verschiedene Antigene mit der Produktion spezifischer Antikörper zu reagieren. Diese Antikörper können isoliert werden, um dann -an Farbstoffe gekoppelt- bestimmte Proteine durch die Antigen-Antikörper-Bindung in Geweben zu identifizieren bzw. zu lokalisieren, was bisher nicht einmal mit Hilfe des Elektronenmikroskopes gelang (BOURNE, 1983).

2.2.1. Desmin

Das Polypeptid Desmin gehört zur Gruppe der "Intermediären Filamente" zusammen mit dem nahe verwandten Vimentin, dem Cytokeratin, dem Glial Fibrillary Acidic Protein und den Neurofilamenten (LAZARIDES, 1980; RAMAEKERS et al., 1982; OSBORN und WEBER, 1983; ANDERTON, 1981).

"Intermediäre Filamente" liegen mit ihrem Durchmesser von 7-11 nm zwischen dem von Mikrofilamenten (6 nm) und dem von Mikrotubuli (25 nm) (OSBORN und WEBER, 1983; ANDERTON, 1981).

Desmin ist ein muskelspezifisches Protein. Es kommt an den Z-Linien der reifen Skelettmuskulatur, in glatten Muskelzellen und an den Glanzstreifen der Herzmuskulatur vor (LAZARIDES und HUBBARD, 1976; ALTMANNSSBERGER et al., 1982). Der Nachweis von Desmin in Rhabdomyosarkomen, Rhabdomyomen, Leiomyosarkomen und Leiomyomen eröffnet die Möglichkeit, es in der

Weichteiltumordiagnostik einzusetzen (ALTMANNBERGER et al., 1981; ALTMANNBERGER et al., 1986).

1976 entdeckten LAZARIDES und HUBBARD ein Protein, das sie nach seiner biologischen Funktion im Körper Desmin nannten, abgeleitet vom griechischen Wort desmos=verbinden.

Unabhängig davon wurde Desmin 1977 von SMALL und SOBIESZEK isoliert. Es wurde von ihnen Skeletin genannt.

Es stellte sich heraus, daß LAZARIDES/ HUBBARD und SMALL/ SOBIESZEK ein und dasselbe Protein mit verschiedenen Namen bezeichnet hatten.

Das Molekulargewicht von Desmin beträgt zwischen 50 und 55 kd (SMALL und SOBIESZEK, 1977; GARD et al., 1979).

GEISLER et al. konnten 1982 die Aminosäuresequenz und Struktur von Desmin bestimmen: Danach besteht das Protein aus einem aminischen Kopfteil (7.5 kd), einem 38 kd-schweren Mittelteil, der stabartig geformt ist, und einem kugelförmigen Schwanzteil, der die Carboxylgruppe trägt.

Der Kopfteil liegt in β -Windungen und β -Faltungen vor. Der vornehmlich α -helikale Mittelteil wird durch eine nicht- α -helikale Kugel in zwei gleich lange Stücke geteilt. Das 5.5 kd Schwanzende ist kugelförmig.

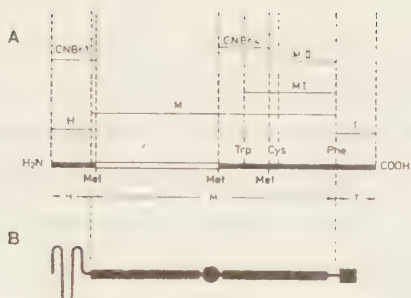


Abb. 1

aus: GEISLER, N., KAUFMANN, E. und WEBER, K.:

Proteinchemical characterization of three structurally distinct domains along the protofilament unit of desmin 10 nm filaments.

Desmin von verschiedenen Spezies unterscheidet sich in seiner Aminosäuresequenz nur zu 9 %. Es kommt zu Kreuzreaktionen zwischen den Seren der einzelnen Spezies. Man kann deshalb in der Diagnostik Desmin speziesunabhängig einsetzen (GEISLER und WEBER, 1981; OSBORN und WEBER, 1983).

Eine ähnliche Aminosäuresequenz wie Desmin besitzt ein anderes "Intermediäres Filament" das Vimentin. Jedoch ist ein Sequenzunterschied von 36 % im Vergleich zu Desmin in der Aminosäuresequenz ausreichend, um bei GEISLER und WEBER, 1981 keine immunologische Kreuzreaktion zustandekommen zu lassen, im Gegensatz zu ANDERTONS Versuchen 1981, die eine schwache Kreuzreaktion zwischen Desmin und Vimentin ergaben. Vimentin

markiert mesenchymale Nichtmuskelzellen (ALTMANNBERGER et al., 1986).

Einige Autoren wiesen darauf hin, daß verschiedene "Intermediäre Filamente" in einer Zelle nebeneinander vorkommen können (GARD et al., 1979; OSBORN und WEBER, 1983; ANDERTON, 1981; GABBIANI et al., 1981 und SCHMID et al., 1982). Wissenschaftler, die mit LAZARIDES zusammenarbeiteten, wiesen auch Desmin in Nichtmuskelzellen von Zellkulturen nach (GARD et al., 1979; LAZARIDES, 1980; LAZARIDES und BALZER, 1978). Den Schluß, daß Desmin nicht muskelspezifisch ist, konnten andere Autoren nicht teilen. Er resultiert daraus, daß die Ergebnisse, an Zellkulturen auf in vivo gewachsene Gewebe übertragen wurden.

Unterschiedliche Ergebnisse gibt es auch bezüglich des Vorkommens von Desmin in den unterschiedlichen muskelhaltigen Organen. Als Beispiel sei die Aorta genannt:

- SCHMID et al., 1982 fanden Desmin in der Aorta mit Vimentin gekoppelt.
- FRANK und WARREN, 1981; GABBIANI et al., 1981 behaupteten, daß sich in der Aorta -aufgrund ihrer besonderen Funktion unter den Blutgefäßen (elastische Arterie) - kein Desmin sondern nur Vimentin befindet.
- OSBORN et al., 1981 fanden einen unterschiedlichen Anteil von Desmin in den verschiedenen Aortenbereichen. Herznah wurde wenig, herzfern eine größere Menge Desmin gefunden.
- In Untersuchungen von SCHMID et al., 1982 konnten tierartliche Unterschiede im Vorkommen von Desmin in der Aorta

festgestellt werden.

Da bei den einzelnen Autoren die Aussagen über Ort der Probenentnahme in der Aorta, Positiv- und Negativkontrollen fehlen oder schwanken, lassen sich die Untersuchungsergebnisse -obwohl vom selben Organ- nur schwer oder gar nicht vergleichen.

GABBIANI et al. fanden 1981 Desmin in den glatten Muskelzellen des Digestions-, Respirations- und Urogenitaltraktes.

OSBORN und WEBER, 1983 und ALTMANNBERGER et al., 1981 konnten bei Versuchen mit mehreren "Intermediären Filamenten" nachweisen, daß sich Myoepithelzellen immunhistochemisch mit Cytokeratin-Antiserum und nicht mit Desmin-Antiserum anfärben lassen.

Desmin baut ein Zytoskelett auf, indem es die Befestigungsplatten (dense bodies und dense plaques) der glatten Muskelzellen miteinander verknüpft (LAZARIDES, 1980; LAZARIDES und HUBBARD, 1976; SMALL und SOBIESZEK, 1977 und OSBORN et al., 1981).

Durch die Organisation des Zytoskeletts durch Desmin beeinflusst dieses Protein indirekt die strukturelle Erscheinung des Zytoplasmas (OSBORN und WEBER, 1983)

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Untersuchungsmaterial

Die Riechschleimhaut von 7 Hunden kam zur Untersuchung. Die Hunde waren wenige Stunden bis 9 Jahre alt, beiderlei Geschlechts und zeigten keinerlei Anzeichen für das Vorliegen einer Erkrankung der Atemwege.

Sofort nach Todeseintritt wurde die Riechschleimhaut entnommen.

TEM-Nr.	Rasse	Alter	Geschlecht
751	Dobermann	3-4 Std	männlich
702	Dalmatiner	3 Mon	männlich
711	Irischer Wolfshundmischling	1 Jahr	männlich
710	Deutscher Schäferhund	2-3 Jahre	weiblich
719	Schäferhund- Mischling	4-5 Jahre	weiblich
750	Schäferhund- Mischling	5 Jahre	männlich
734	Beagle	9 Jahre	weiblich

3.1.2. Elektronenmikroskopie

Aus den oben genannten Riechschleimhautproben wurden jeweils 8 circa 1-2 mm² große Gewebestücke entnommen, in phosphatgepuffertem 6.25 %igem Glutaraldehyd fixiert, in 1 % Osmiumtetroxid nachfixiert, in Epon eingebettet und bei 40 ° C polymerisiert.

Von diesen Proben wurden Semidünnschnitte und Ultradünnschnitte angefertigt. Erstere wurden mit Azurblau gefärbt und mit dem Lichtmikroskop ausgewertet. letztere wurden mit Uranylacetat und Bleicitrat kontrastiert und mit einem Zeiss EM 10 ausgewertet.

3.1.3. Immunhistochemie der Paraffinschnitte

So schnell wie möglich nach Todeseintritt wurden die den Leichen entnommenen Gewebe mit 7 %igem gepuffertem Formalin oder mit 60 %igem Alkohol fixiert, entkalkt und in Paraffin mit einem Erstarrungspunkt von 42-44 °C eingebettet. ca. 8 µm dicke Schnitte angefertigt und auf Objektträger aufgezogen, die zuvor zur besseren Haftung der Schnitte mit Chromalaun behandelt worden waren.

Als Positivkontrollen für das Desmin- Antiserum dienten Schnitte von Aorta, Darm, Mamma und Parotis des Hundes. die wie die Riechschleimhautproben behandelt wurden.

Die Paraffinschnitte wurden bei 56 °C 20 Minuten im Brutschrank inkubiert. mit Xylol 15 Minuten entparaffiniert und über eine absteigende Alkoholreihe (100 %iger Alkohol, 96 %iger Alkohol je 10 Minuten) rehydriert.

Im Gewebe natürlicherweise vorkommende Peroxidasequellen, die zu falsch-positiven Ergebnissen führen könnten, wurden anschließend durch Baden des Gewebe in einer 1%igen H_2O_2 / Methanol-Lösung aus 5 ml 30 %igem H_2O_2 und 145 ml Methanol geblockt.

Dann wurde kurz mit Leitungswasser gewaschen und anschließend mit PBS-A-Lösung 20 Minuten gespült.

Mit Schweinenormalserum 1:10 mit PBS-A-Lösung verdünnt- wurden die Gewebeschnitte 30 Minuten bedeckt. Das Serum sollte unspezifische Bindungen der im folgenden verwendeten Antikörper an Gewebeantigene verhindern. Nach der Inkubationszeit wurde das Serum abgekippt, die Objektträger nicht gespült.

Polyklonales Desmin-Antiserum -im Kaninchen gewonnen und von der Fa. Eurodiagnostics bezogen- wurde als erster Antikörper auf die Objektträger aufgetragen und diese 16 Stunden lang bei 4 °C in einer feuchten Kammer inkubiert. Die Negativkontrollen wurden statt mit Desmin-Antiserum mit reiner PBS-A-Lösung benetzt und unter denselben Bedingungen aufbewahrt.

Nachfolgend wurden die Schnitte in frischer PBS-A-Lösung 20 Minuten gebadet.

Der 1: 50 verdünnte Brückenantikörper "Schwein gegen Kaninchen-IgG" konnte sich während 20 minütiger Inkubation mit dem Primärantikörper "Anti-Desmin" verbinden.

Nicht gebundener Antikörper wurde anschließend in einem frischen 10 minütigen PBS-A-Bad vom Gewebe entfernt.

Im nächsten Schritt wurde 1: 100 verdünnter Peroxidase-Anti-Peroxidase-Komplex (PAP) vom Kaninchen an eine freie Antigendeterminante des Schwein-Anti-Kaninchen-IgGs gebunden.

PAP-Antikörper, die während der 20 minütigen Inkubation keine Antigen-Antikörper-Bindung eingegangen waren, wurden durch Waschung mit frischer PBS-A-Lösung entfernt.

Zur Sichtbarmachung der immunhistochemischen Reaktion wurde Substrat nach NexØ zugefügt. Hergestellt wurde dies aus 20 mg 3-Amino-9-Äthylcarbazol, das in 5 ml Dimethylformamid und 95 ml Acetatpuffer bei pH 5 in Lösung gebracht und zwei Mal filtriert wurde. Erst kurz vor der Verwendung wurden 50 µl 30 %ige H_2O_2 -Lösung zugesetzt.

Das 3-Amino-9-Äthylcarbazol wird durch die Peroxidase des PAP-Komplexes oxidiert. Das Reaktionsprodukt ist eine rote wasserlösliche Verbindung, die schließlich die Antigenstelle im Gewebe markiert.

Mit Ausnahme der Inkubation der Schnitte mit dem Desmin-Antikörper wurden sämtliche Arbeitsschritte bei Raumtemperatur ausgeführt.

3.2. Elektronenmikroskopie der Lamina propria

3.2.1. Bowmansche Drüsenzelle

Mehrere der in der Lamina propria gelegenen Drüsenzellen schließen sich zu einer funktionellen Einheit, der Bowmanschen Drüse, zusammen. Sie bilden Sekret, das über ein Gangsystem zum Riechepithel befördert wird und für die Übertragung von Gerüchen in Nervenimpulse des Körpers verantwortlich gemacht wird.

Die Ausschleusung von Sekret aus der Drüsenzelle erfolgt mittels Krinozytose (s. Abb. 5).

Elektronenmikroskopisch lassen sich nach der Elektronendichte des Zytoplasmas zwei Typen von Drüsenzellen unterscheiden, ein heller und ein dunkler (s. Abb. 2).

In einer Schnittebene können Drüsenzellen der oben genannten verschiedenen Zellarten nebeneinander vorkommen und zusammen einen Drüsenkomplex bilden (s. Abb. 2).

3.2.1.1. Helle und dunkle Drüsenzelle

a) Helle Drüsenzelle: Auffallend und typisch für den Zelltyp ist der große Reichtum an rauhem endoplasmatischem Retikulum, vor allem an der dem Drüsenausführungsgang abgewandten Seite. Die zahlreich vorhandenen Mitochondrien sind vorwiegend in der Nähe des Plasmalemmas gruppiert oder liegen gehäuft an den Kernpolen. Mit Drüsensekret gefüllte Granula findet man vermehrt an der dem Drüsenausführungsgang zugewandten Seite der Drüsenzelle. Das

Sekret erscheint elektronendicht. Die Granula besitzt einen Durchmesser von 100- 300 nm (s. Abb 2).

Der Zellkern erscheint im elektronenmikroskopischen Bild gelappt und weniger chromatinreich als der Zellkern der dunklen Drüsenzelle.

b) Dunkle Drüsenzelle: Der Zellkern dieses Zelltyps ist abgerundet und chromatinreicher als der der helleren Zellart. Das Zytoplasma ist vollständig mit glattem endoplasmatischem Retikulum ausgefüllt, das unter dem Plasmalemm von einem schmalen Saum von Mitochondrien verdrängt wird (s. Abb. 5). Obwohl das glatte endoplasmatische Retikulum mengenmäßig überwiegt, findet man auch kleinere Bereiche mit rauhem endoplasmatischem Retikulum (s. Abb. 5).

Die Sekretgranula der dunklen Drüsenzellen sind elektronenoptisch inhomogen. In den 500 bis 1000 nm großen Sekretvakuolen überwiegen helle, wabig-aufgelockerte Bereiche, es kommen aber auch elektronendichte Stellen von ca. 100 nm Durchmesser vor (s. Abb. 2). Auch die Sekretgranula dieses Zelltyps ist in der Nähe der Ausführungsgänge vermehrt anzutreffen.

In den dunklen Drüsenzellen eines 9 Jahre alten, weiblichen Beagles findet man mehrere bis 10.6 μm im Durchmesser zählende, mit inhomogenem Material gefüllte Kavitäten (s. Abb. 3). Die umgebende Membran ist mit Ribosomen besetzt und hat sternförmige Ausziehungen. Es handelt sich um eine extreme, mit Sekret gefüllte Erweiterung des rauhen endoplasmatischen Retikulums, das in den sternförmigen Ausziehungen wieder annähernd seine

ursprüngliche Ausdehnung erreicht. Das Sekret ist elektronendichter als bei diesem Zelltyp zu erwarten, aber es besitzt die typischen, oben beschriebenen elektronendichten Einschlüsse (s. Abb 3).

Ferner sind bei diesem Tier altersbedingt vermehrt Telolysosomen zu finden.

Die bei beiden Zelltypen gleichartig auftretenden Zellorganellen sind freie Ribosomen, die im Plasma verstreut liegen, Golgi-Apparat, der vor allem an den Kernpolen vorkommt und Telolysosomen, die Zelldetritus enthalten und bis zu 2.3 μm groß werden können (s. Abb. 2: s. Abb. 5).

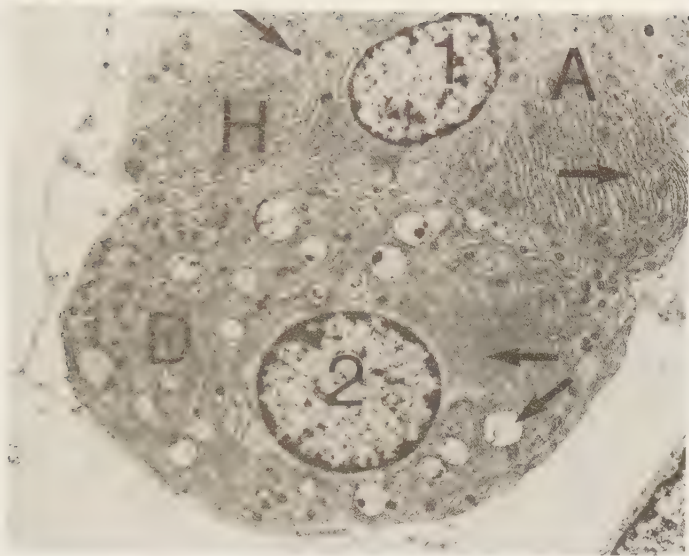


Abb.2

Dalmatiner, 3 Monate alt, männlich

Vergrößerung 24000 x

In der hellen Drüsenzelle (H) fällt der Reichtum an rauhem endoplasmatischem Retikulum (→) auf, während in den dunklen Drüsenzellen (D) das glatte endoplasmatische Retikulum (←) überwiegt. Der Zellkern der hellen Drüsenzelle (1) ist deutlich heterochromatinärmer als der der dunklen (2).

Unterschiedlich sind auch die Sekretgranula. Während die dunkle Drüsenzelle über elektronenoptisch aufgehellte, große Sekretgranula (↙) mit elektronendichten Bestandteilen verfügt, sind die Sekretvakuolen der hellen Bowmanschen Drüsenzellen (↘) erheblich kleiner und homogen elektronendicht.

Von hellen Drüsenzellen wird ein Ausführungsgang gebildet (A).

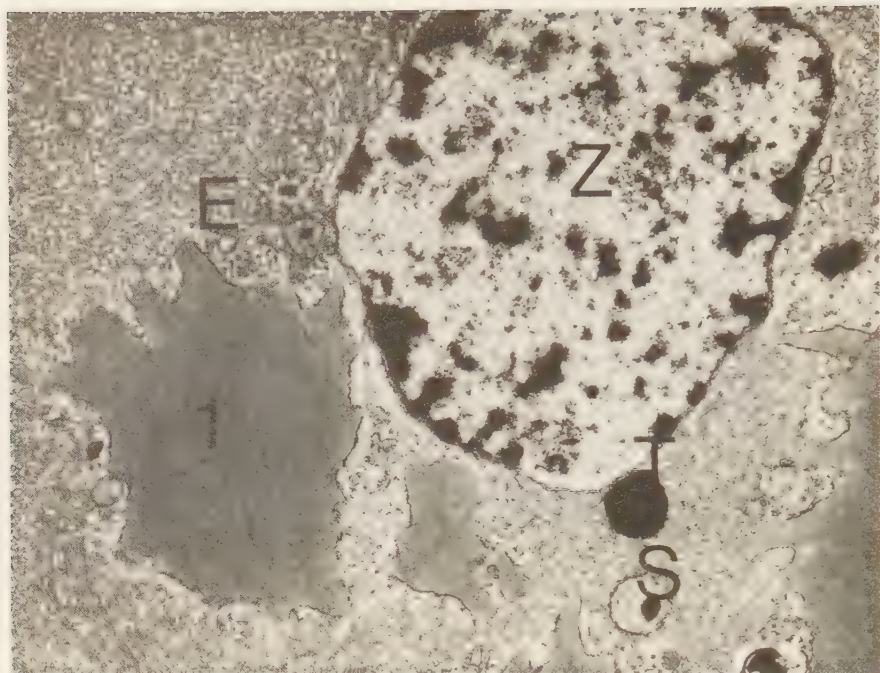


Abb. 3

Beagle, 9 Jahre alt. weiblich

Vergrößerung 16300 x

Dieser Ausschnitt aus einer dunklen Bowmansche Drüsenzelle zeigt das massenhaft vorkommende glatte endoplasmatische Retikulum (E) und den Zellkern (Z). Ferner sind zwei Telolysosomen (T) und elektronenoptisch helle Sekretgranula (S) zu finden. Auffallend sind die mit Sekret extrem gefüllten Bereiche des rauhen endoplasmatischen Retikulums (1).

3.2.1.2. Zellmembran mit Zellverbindungen

Eine Bowmansche Drüse wird zum sie umgebenden Gewebe durch eine Basallamina begrenzt. Die Basallamina folgt dabei der äußeren Begrenzung der Drüse und nicht der äußeren Begrenzung jeder einzelnen Drüsenzelle. Wenn zwei Drüsenzellen aneinandergrenzen, folgt die Basallamina nur ein kurzes Stück dem Interzellularspalt und schlägt dann auf die Oberfläche der benachbarten Drüsenzelle um (s. Abb. 2). Die Basallamina ist durch Hemidesmosomen mit der Bowmanschen Drüsenzelle verbunden.

Das Plasmalemm der Bowmanschen Drüsenzellen enthält Zytoplasmaausstülpungen. Diese fingerförmigen Strukturen mit einem Durchmesser von 80 nm und einer Länge von 2.5 μ m kommen besonders häufig zwischen zwei benachbarten Drüsenzellen vor, wobei jede der Zellen diese Zytoplasmafortsätze ausbildet. Die fingerförmige Verzahnung kann durch eine aber auch durch mehrere Ausstülpungen des Plasmalemm zustandekommen (s. Abb. 2).

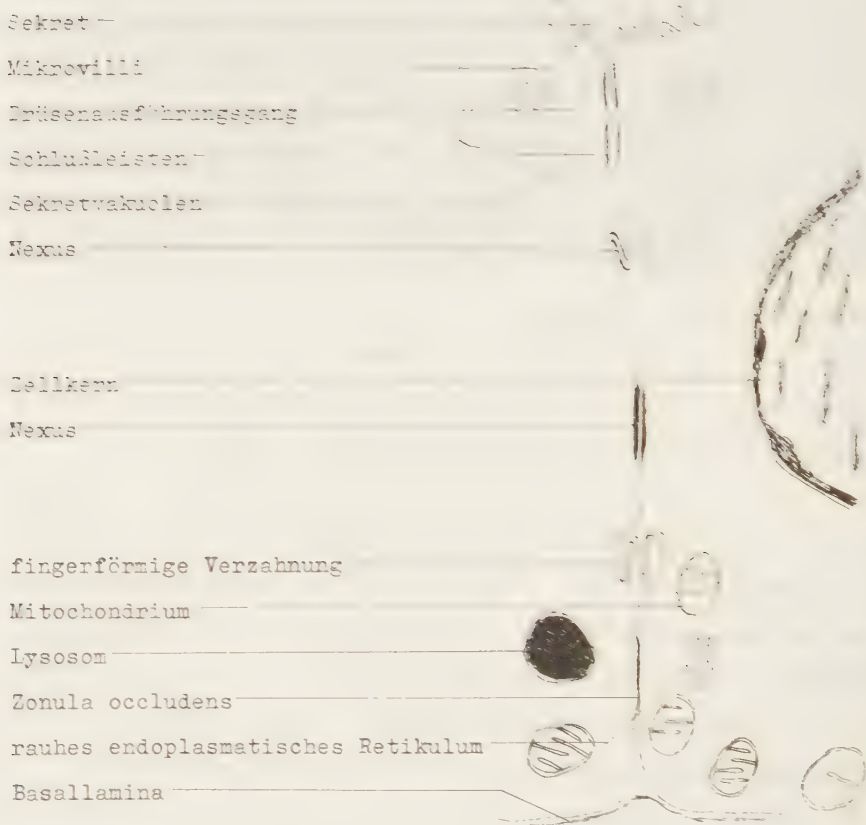
Auch an der Basis der Drüsenzellen kommen diese Zytoplasmafortsätze vor. Die Basallamina folgt hierbei nicht unmittelbar dem Plasmalemm, sondern bildet auf "kürzestem Weg" eine Umhüllung der Drüse (s. Abb. 11).

Die Zytoplasmafortsätze bilden im Bereich der Drüsenausführungsgänge Mikrovilli (s. Abb. 2; s. Abb. 5).

Die einzelnen Drüsenzellen sind außer durch die oben genannten Zytoplasmafortsätze auch durch Desmosomen, Zonulae occludentes

und Gap junctions miteinander verknüpft. Die Desmosomen treten als Schlußleistensystem besonders zahlreich als Verbindungsstellen zwischen Drüsenzellen auf, die gemeinsam einen Ausführungsgang bilden (s. Abb. 5).

Abb. 4 Schema des Plasmalemma der Bowmanschen Drüsenzelle



Glattes endoplasmatisches Retikulum wurde aus Vereinfachungsgründen weggelassen.

Abb. 5

Deutscher Schäferhund. 2-3 Jahre alt. weiblich

Vergrößerung 7500 x

Das Bild zeigt einen Drüsenausführungsgang (A), der von fünf dunklen Drüsenzellen gebildet wird. Deutlich sichtbar sind die Zellkerne (Z), das massenhaft vorhandene überwiegend glatte endoplasmatische Retikulum (E), wenige und kleine Bereiche von rauhem endoplasmatischem Retikulum (R), Telolysosomen (T), die zum Drüsenausführungsgang vermehrt vorhandene Sekretgranula (S), der Mitochondrienreichtum (M) in Kernnähe und unter dem Plasmalemm.

Typisch für die Drüsenzellen sind fingerförmige Fortsätze (V) im Zwischenzellbereich und an der Zellbasis. Am Drüsenausführungsgang sind die fingerförmigen Fortsätze als Mikrovilli ausgebildet.

Außerdem sind benachbarte Drüsenzellen über Zonulae occludentes (→), Gap junctions (↘) und Desmosomen (↙) miteinander verbunden.

Am Drüsenausführungsgang findet die Ausschleusung (Krinozytose) von Sekretgranula statt (▲).

Die Drüse ist von einer Basallamina (←) umgeben.

3.2.2. Glatte Muskelzelle

Die glatten Muskelzellen in der Lamina propria sind bis zu 30 μm lang und bis zu 3 μm breit. Sie haben meist einen langgestreckten, spindelförmigen Zelleib, dessen Verlauf sich dem der benachbarten Zellen anpasst.

Der Zelleib der Muskelzelle besitzt Ausläufer von bis zu 1,5 μm Länge und 0,2 μm Durchmesser, die die Verbindung mit benachbarten Zellen in diesem Gewebe z.B. weiteren glatten Muskelzellen, Drüsenzellen oder Nervenfasern über Zellverbindungen aufnehmen (s. Abb. 8).

Die glatten Muskelzellen können für einige Zellen eine Art zellige Umhüllung bilden. Diese Umhüllung kommt besonders häufig im Zusammenhang mit Drüsenzellen vor, aber auch mit olfaktorischen und vegetativen Nervenfasern. So können sich bis zu drei lockere und netzartige Muskelzellschichten ausbilden (s. Abb. 7). Die Muskelzellhülle kann auch fehlen (s. Abb. 5).

Der Abstand zu den Nervenfasern oder Drüsenzellen beträgt zwischen 50 nm und 3 μm (s. Abb. 7).

Zwischen den einzelnen Muskelzellschichten findet man Elastin- und Kollagenfasern (s. Abb. 7).

endoplasmatisches Retikulum

Basallamina

Befestigungsplatten

Mitochondrien

Kollagen

Elastin

mikropinozytotische

Vesikel

Zellkern

Myofilamente

Bowmansche Drüsen-
zelle

Ribosomen

Nexus

3.2.2.1. Zellkern

Der Zellkern einer Muskelzelle ist von spindelförmiger Gestalt mit Einkerbungen. Seine Länge variiert von 7 bis 25 μm , seine Breite von 2 bis 5 μm . Die Größe ist vom Kontraktionszustand der Muskelzelle abhängig, in den auch der Kern mit einbezogen ist. Der Zellkern ist reich an Heterochromatin. Nukleoli können gefunden werden.

3.2.2.2. Zellmembran mit Zellverbindungen

In der Zellmembran der glatten Muskelzelle findet man mikropinozytotische Vesikel (Caveolae intrazelluläres) mit einem Durchmesser von 50-150 nm (s. Abb. 7). Diese flaschenförmigen Einkerbungen des Plasmalemmas treten an einigen Stellen gehäuft auf und fehlen vollkommen, wenn Befestigungsplatten (dense plaques) das Plasmalemma verstärken. Die Befestigungsplatten können sich über eine Länge von bis zu 1 μm am Plasmalemma entlang erstrecken.

Eine Basallamina um die glatte Muskelzelle kommt nur an Stellen vor, an der sie durch Befestigungsplatten an der Zellmembran angeheftet wird, man kann also die Basallamina nur selten und nur bruchstückhaft finden.

Die glatten Muskelzellen liegen außerhalb der Basallamina von Nervenhüllzellen und Drüsenzellen und sind mit ihr über Hemidesmosomen verbunden (s. Abb. 8; s. Abb. 11).

Zu benachbarten glatten Muskelzellen werden Nexus als Zellkontakte aufgebaut (s. Abb. 7).

3.2.2.3. Myofilamente

Die Myofilamente durchziehen die ganze Zelle wie ein Netzwerk. Nur die Kernpole sind myofilamentfrei. Die Aktinfilamente mit einem Durchmesser von 3-8 nm erscheinen im Längsschnitt gewellt bei Kontraktion der Zelle oder gestreckt, wenn die Zelle entspannt ist.

Die dicken Myosinfilamente mit einem Durchmesser von 13-17 nm erscheinen im Querschnitt als elektronendichte kleine Stippchen auf den Aktinfilamenten der Muskelzellen (s. Abb. 7).

Circa 0.3 bis 1.0 μm lange, und 0.2 bis 0.6 μm breite elektronendichte, feingranulierte Befestigungsplatten bilden Vernetzungsstellen für Desmin- und Aktinfilamente. (s. Abb. 7; s. Abb. 8). Der Übergang der Befestigungsplatten zum Zytoplasma ist fließend. Sie sind darin unregelmäßig verteilt. Der Abstand zwischen den einzelnen aus dem Protein Aktinin bestehenden Befestigungsplatten kann 50 nm aber auch bis zu 1.5 μm betragen.

3.2.2.4. Zellorganellen

Hauptsächlich an den myofilamentfreien Kernpolen kommen freie Ribosomen, Golgi-Apparat, Mitochondrien, Lipofuszin enthaltende Zytosomen und Glykogengranula vor. In Plasmalemmnähe findet man vereinzelt Säckchen des glatten endoplasmatischen Retikulums, ansonsten ist das Zytoplasma außerhalb der Kernpole sehr arm an Zellorganellen.

Abb. 7

Beagle, 9 Jahre alt, weiblich

Vergrößerung 24000 x

Drei netzartige Schichten von Muskelzellen (**M**) umhüllen locker eine Drüsenzelle (**D**). Der Drüsenzelle schmiegt sich eine Basallamina an (). Im Zytoplasma der Muskelzellen sind Myofilamente (**F**) zu sehen. Auf den feinen Aktinfilamenten sind die Myosinfilamente als kleine Pünktchen () zu erkennen. Deutlich heben sich die Befestigungsplatten () als elektronendichte Längsstreifen zwischen den Myofilamenten ab. Im Plasmalemm sind mikropinozytotische Vesikel () im An- und Querschnitt zu sehen. Zu benachbarten Muskelzellausläufern werden Zellkontakte über Nexus () hergestellt. Zwischen den Muskelschichten befinden sich Kollagen- und Elastinfasern (**K**). Rechts oben ist ein olfaktorischer Nerv (**O**) im Querschnitt zu erkennen.

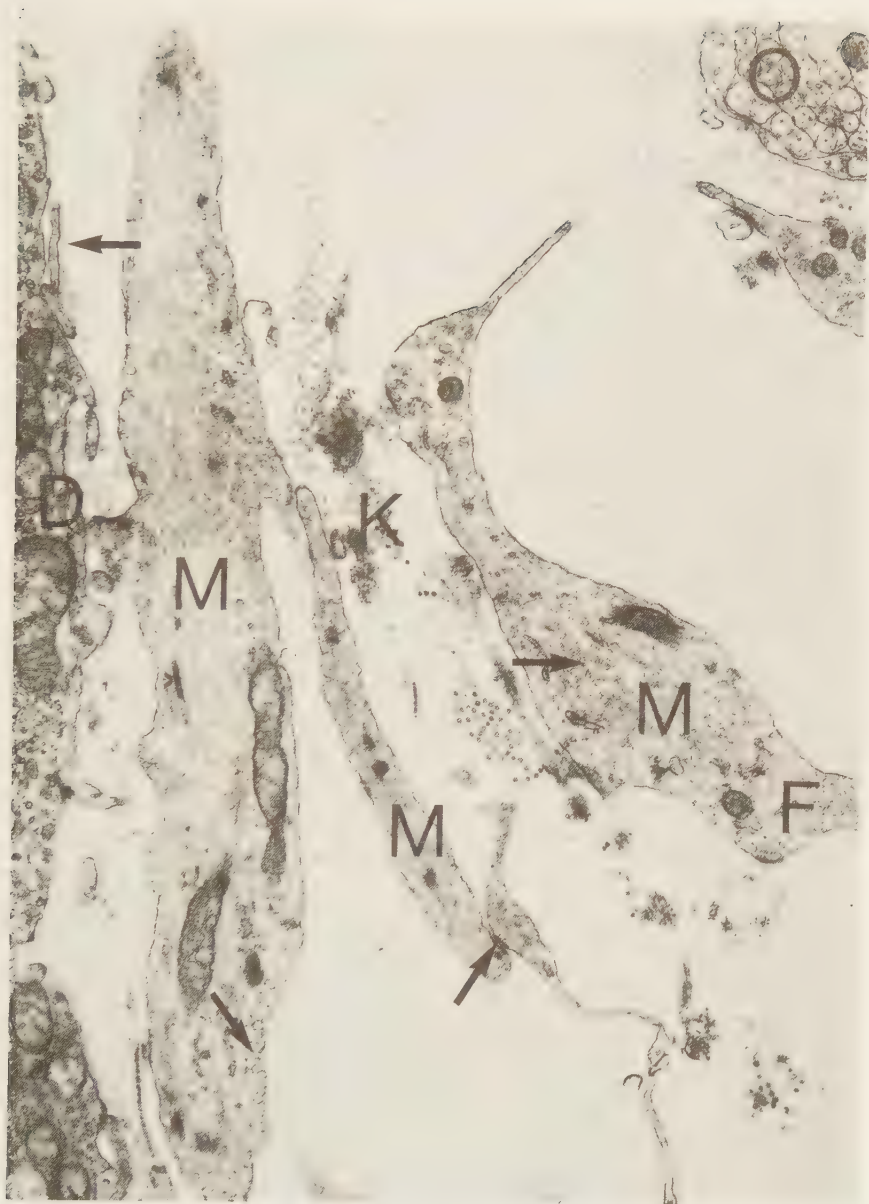


Abb. 8

Beagle. 9 Jahre alt. weiblich

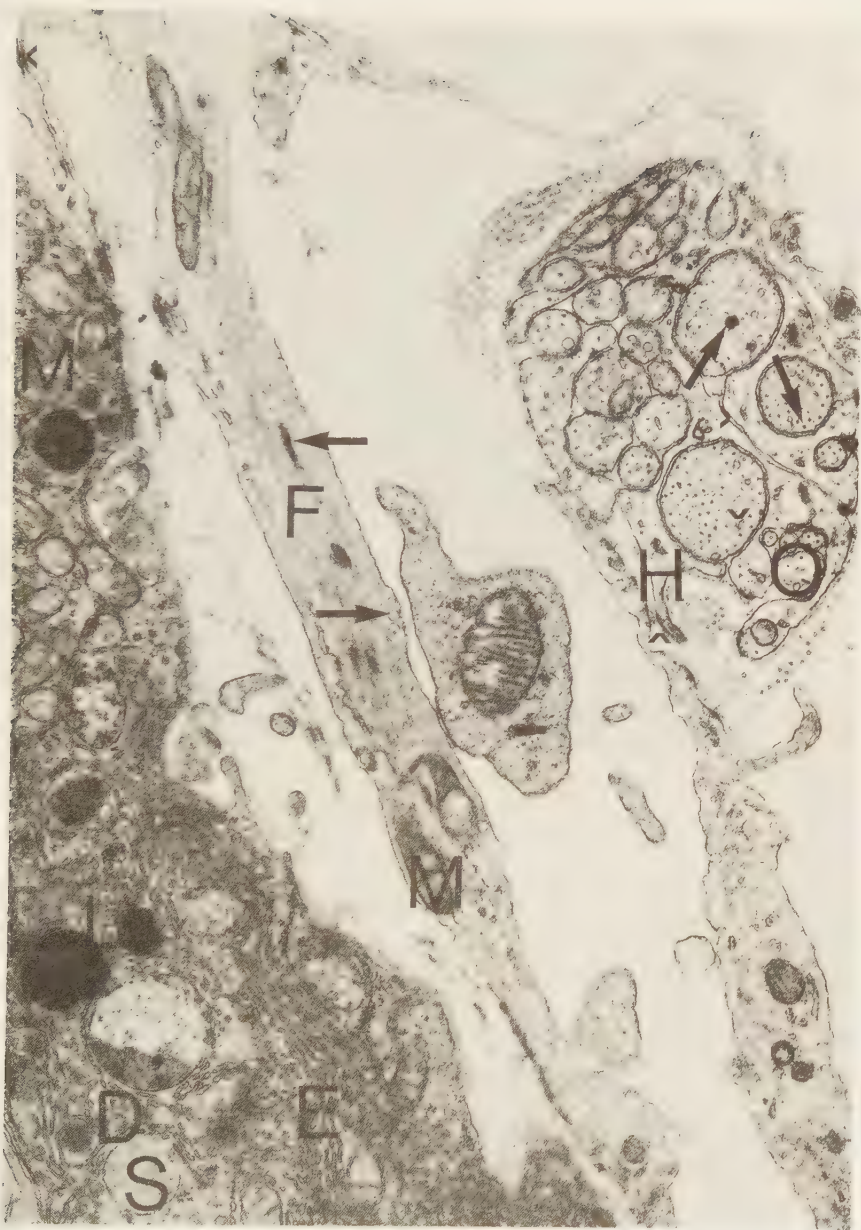
Vergrößerung 24000 x

Eine dunkle Drüsenzelle (D) enthält zahlreiche Zellorganellen wie glattes endoplasmatisches Retikulum (E), Mitochondrien (M), Lysosomen (L), Sekretgranula (S). Dem Plasmalemm liegt eine Basallamina auf.

Die Muskelzelle in der Bildmitte ist mit mikropinozytotischen Vesikeln (→→). Befestigungsplatten (←←). Myofilamenten (F) und Mitochondrien ausgestattet. Sie ist mit einer benachbarten Muskelzelle über Desmosomen (<) verbunden.

Am rechten Bildrand ist ein gemischtes Nervenbündel sichtbar. Die großen vegetativen Axone sind einzeln von der Nervenhüllzelle (H) umfassen. Lange Mesaxone (>) ziehen zur Hüllzelloberfläche. Die kleineren olfaktorischen Axone (O) werden gemeinsam von der Hüllzelle umschlossen.

Im Inneren der Axone sind Neurotubuli (↘), Neurofilamente und Transmittervesikel zu erkennen. Die elektronendichten Transmittervesikel mit größerem Durchmesser sind "dense core vesicles" (↗). Ein zweiter, kleinerer Transmittervesikeltyp (v) erscheint elektronenoptisch heller. Eine glatte Muskelzelle ist mit der Basallamina der Nervenhüllzelle über Hemidesmosomen (^) verbunden.



3.2.3. Vegetative Nervenfasern

Bei den vegetativen Nervenfasern kann elektronenmikroskopisch weder zwischen Efferenzen und Afferenzen noch zwischen parasympathischen und sympathischen Fasern unterschieden werden.

Man findet die vegetativen Nervenfasern der Lamina propria in räumlicher Nähe von Drüsen- und Muskelzellen (s. Abb. 11) sowie Blutgefäßen (s. Abb. 9).

Vegetative Nervenfasern können auch zusammen mit olfaktorischen und sensiblen Nervenfasern einen gemischten Nerven bilden (s. Abb. 10).



Abb. 9

Dalmatiner, 3 Monate alt, männlich

Vergrößerung 31500 x

Im oberen Bildteil ist eine Arteriolo der Riechschleimhaut zu sehen. Das Lumen (L) wird durch Endothelzellen (E) begrenzt. Durch eine Basallamina (—→) jeweils voneinander und den Endothelzellen getrennt, liegen glatte Muskelzellen eng auf. An drei Stellen des vegetativen Nervenbündels (←) werden die Axone nur von einer Basallamina bedeckt: die Zytoplasmafortsätze der polyaxonalen Remakzelle (H) bedecken die Axone nicht.

3.2.3.1. Axon

Vegetative Nervenfasern liegen mit ihrem Durchmesser zwischen dem olfaktorischer und dem sensibler Nervenfasern. Der Durchmesser der Axone beträgt zwischen 0.2 μm und 1.5 μm , wobei kleine Axonquerschnitte bis 0.6 μm an Endaufzweigungen der Nervenfasern und große Querschnitte in von Perineurium umschiedeten Nervenfaserbündel gefunden werden.

Im Axoplasma finden sich Neurotubuli und Neurofilamente. Sie verlaufen in der Längsrichtung des Axons. Die 15 nm im Durchmesser zählenden Neurotubuli sind ringartig unter dem Plasmalemm des Axons angeordnet. Ringartig werden auch Mitochondrien und Transmittervesikel umhüllt (s. Abb. 10).

Die Neurofilamente füllen das gesamte Axoplasma aus. Ihr Durchmesser beträgt 6 bis 10 nm.

In den Axonen finden sich auch 40 nm im Durchmesser große, Bläschen mit elektronenoptisch hellem Inhalt, bei denen es sich um cholinerge Transmittervesikel handelt. Peptiderge Transmittervesikel, nach ihrem elektronendichten Zentrum als "dense core vesicles" bezeichnet, besitzen einen größeren Durchmesser als die cholinergen Transmittervesikel (bis zu 90 nm), kommen aber in geringerer Zahl vor (s. Abb. 8; s. Abb. 11).

Die Axone der vegetativen Nervenzellen sind mit Mitochondrien und kleinen Säckchen des endoplasmatischen Retikulums ausgestattet.

3.2.3.2. Hüllzellen

Die vegetativen Nervenfasern besitzen Hüllzellen vom Typ der polyaxonalen Remakzellen. Es sind bis zu 12 Axone einzeln in eine Remakzelle eingebettet. Sie sind durch ein Mesaxon mit der Basallamina verbunden. Am Umschlagspunkt des Mesaxons auf die Zellmembran der Remakzelle ist diese durch Hemidesmosomen mit der die Zelle umgebenden Basallamina verbunden. Dabei können mehrere Remakzellen von einer Basallamina umschieden sein (s. Abb. 10).

Fibrozyten, dicht gelagerte Kollagenfasern und Elastinfasern bilden zwischen die Hüllzellen eingelagertes Bindegewebe, das sogenannte Endoneurium. Handelt es sich bei den Nervenfasern um Endaufzweigungen, können weitere Hüllen fehlen (s. Abb. 8).

3.2.3.3. Peri- und Epineurium

Vegetative Nerven oder gemischte Nervenbündel mit olfaktorischen und sensiblen Nervenfasern werden vom Perineurium umhüllt. Die Perineuralzellen sind sehr lang (0,1 bis 0,3 μm) und schlank (Breite: 3 nm). Das Perineurium besteht aus bis zu vier Schichten, die 0,5 bis 1 μm voneinander entfernt liegen. Jede Schicht enthält bis zu drei Zellagen mit einem Abstand von 0,2 bis 0,4 μm voneinander.

Die Zugehörigkeit zu einer Schicht ist dadurch gekennzeichnet, daß die beiden Lagen der Schicht zusammen von einer Basallamina überzogen werden. Es kann aber auch vorkommen, daß jede Perineuralzelle einzeln von einer Basallamina überzogen wird. Die Schichtung wird durch den Reichtum an Kollagen- und Elastinfasern

deutlich gemacht. während zwischen den einzelnen Lagen von ein und derselben Schicht relativ wenige Bindegewebsfasern anzutreffen sind (s. Abb. 10).

Die Perineuralzellen sind untereinander über Desmosomen oder Zonulae occludentes verbunden.

Die Basallamina wird durch Hemidesmosomen an der Perineuralzelle befestigt.

Der Zellkern der Perineuralzelle ist langgezogen und chromatinreich. Typisch für den Zelltyp ist sein Reichtum an mikropinozytotischen Vesikeln (s. Abb. 10).

Das Epineurium aus Fibrozyten, Kollagen- und Elastinfasern umschließt das Nervenbündel und stellt die Verbindung zum umgebenden Bindegewebe her.

Abb.10

Schäferhundmischling, 5 Jahre alt, männlich

Vergrößerung 50000 x

Am oberen Bildrand ist die in einzelnen Schichten aus einer oder zwei Perineuralzellen (P) aufgebaute Perineuralhülle eines gemischten Nerven zu sehen. Zwischen den Schichten liegen dichtgepackt Kollagen- und Elastinfasern. Die Perineuralzellen zeichnen sich durch ihren Reichtum an mikropinozytotischen Vesikeln (►) und Zellverbindungen wie Zonulae occludentes (➡) oder Desmosomen (↘) aus.

Ein trigeminales Axon (T) wird von der elektronendichten Myelinscheide umschlossen. Diese wird vom Zytoplasma der dazugehörigen Schwannzelle (S) umfasst. Deutlich sichtbar ist das Mesaxon (▲). Die Schwannzelle ist von einer Basallamina umhüllt, die durch Hemidesmosomen (←) an der Schwannzelle befestigt ist.

Die Axone (A) der vegetativen Nervenfasern sind einzeln in eine polyaxonale Remakzelle (H) eingebettet. Ein Mesaxon (◀) verbindet die Axone mit der Basallamina. Der Zellkern der Hüllzelle ist heterochromatinreich. Eine oder zwei polyaxonale Remakzellen sind von einer Basallamina (▼) umgeben.

Am linken Bildrand sind olfaktorische Nervenfasern (O) in ihren astrozytenartigen Hüllzellen zu sehen.

Die Basallamina bildet zusammen mit Fibrozyten (F), Kollagen- und Elastinfasern (K) das Endoneurium des Nerven.



3.2.3.4. Ausschleusung von Transmitter

Die vegetativen Nervenfasern sind ganz von der polyaxonalen Remakzellen umhüllt und sind nur durch das circa 50 nm breite, durch Desmosomen zusammengehaltene Mesaxon mit dem Extrazellularraum verbunden. Soll nun Transmitter aus den Axonen ausgeschleust werden, werden die beiden Blätter des Mesaxon auseinandergezogen. Dadurch entsteht eine freie Oberfläche für das Axon. Das Axon steht aber zu keiner Zeit über die Oberfläche der polyaxonalen Remakzelle vor. Nun liegt das Axon mit zirka 1/4 seiner Oberfläche "entblößt" unter der Basallamina. Derweil sind die Transmittervesikel zur freien Axonoberfläche gewandert und werden nun in Richtung auf das Zielorgan geöffnet. Die Basallamina löst sich bei diesem Vorgang zu keinem Zeitpunkt auf (s. Abb. 11).



Abb. 11

Beagle. 9 Jahre alt. weiblich

Vergrößerung 40000 x

Ein vegetatives Nervenfaserbündel ist zwischen eine glatte Muskelzelle und eine Drüsenzelle eingebettet. Deutlich sichtbar sind die unterschiedlich großen Axone mit cholinergen Transmittervesikeln (←) und einem "dense core vesicle" (→). Die polyaxonale Remakzelle (H) hat sich bereits so weit zurückgezogen, daß ein Teil der Oberfläche des Axons nur noch von der Basallamina überzogen ist und eine Abgabe von Transmitter erfolgen kann (↙). Sie erfolgt sowohl in Richtung auf das Zielorgan Muskelzelle (M) als auch in Richtung auf das Zielorgan Drüsenzelle (D).

In der Muskelzelle sind Befestigungsplatten (B). Desmosomen mit einem anderen Muskelzellausläufer (↘) und hemidesmosomale Verbindungen mit der polyaxonalen Hüllzelle (^) zu sehen.

Die von einer Basallamina überzogene Drüsenzelle enthält vorwiegend glattes endoplasmatisches Retikulum (E).

3.2.4. Nervenfasern des N. trigeminus

Die Nervenfasern des N. trigeminus kommen nur selten in der Lamina propria vor. Es handelt sich um myelinisierte Nervenfasern. Oft findet man die Nervenfasern in gemischten Nerven. zusammen mit vegetativen oder olfaktorischen (s. Abb. 10).

Trigeminal Nervenendigungen können in der Lamina propria der Riechschleimhaut nicht gefunden werden.

3.2.4.1. Axon

Der Durchmesser des Axons ist länglich oval und kann bis über 2 μm lang und 0,8 μm breit sein. Im Axoplasma befinden sich vornehmlich randständige Neurotubuli mit einem Durchmesser von 20 nm. 6 bis 10 nm im Durchmesser große Neurofilamente füllen das Axoplasma. Zwischen ihnen kann man cholinerge elektronenoptisch leere Transmittervesikel mit einem Durchmesser von 40 nm finden. Mitochondrien kommen vor (s. Abb 10).

3.2.4.2. Hüllzellen

Bei den Hüllzellen des N. trigeminus handelt es sich um Schwannzellen. Sie werden von einem Mesaxon durchschnitten, das sich in engen Windungen um das Axon wickelt und die sogenannte Myelinscheide bildet. Sie ist ungefähr 0,5 μm dick und lamellär geschichtet (s. Abb. 10).

Außerhalb der Myelinscheide liegt das Zytoplasma der

Schwannzelle. In ihm findet man einen heterochromatinreichen Kern, glattes und rauhes endoplasmatisches Retikulum, frei im Zytoplasma liegende Ribosomen, Golgi-Apparat und Mitochondrien. Jede Schwannzelle umscheidet jeweils nur ein Axon. Das Endoneurium um die Schwannzellen wird von der Basallamina und Bindegewebsfasern und -zellen gebildet (s. Abb. 10).

3.2.4.3. Peri- und Epineurium

Das Peri- und Epineurium der trigeminalen Nervenfasern entspricht im Bau dem der vegetativen Nervenfasern (s. 3.2.3.3.).

3.3.

Immunhistochemischen Untersuchungen

In den untersuchten Riechschleimhautproben kann mittels immunhistochemischer Untersuchung Desmin-Antigen nachgewiesen werden. Dabei kann kein qualitativer Unterschied der Anfärbbarkeit zwischen alkohol- und formaldehydfixierten Proben festgestellt werden. Positiv reagieren neben den Wänden der Arteriolen des Gewebes vereinzelt im Längsschnitt langgestreckte, im Querschnitt rundliche Zellen, die in unmittelbarer Nachbarschaft der Drüsenzellen liegen.

In den als Positivkontrollen dienenden Gewebeschnitten von Aorta und Darm reagieren die Muskelschichten positiv mit Desminantiserum. Im Parotisgewebe wurden nur die Arteriolenwände mit "Desmin-Antiserum-Komplex" markiert, nicht jedoch die Myoepithelzellen.

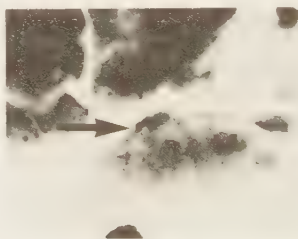


Abb. 12

Lamina propria der Riechschleimhaut des Hundes

Vergrößerung 880 x

Der Ausläufer einer glatten Muskelzelle (←) zeigt eine positive Reaktion beim immunhistochemischen Nachweis mit Desmin-Antikörpern. Er ist eng an eine Bowmansche Drüsenzellen geschmiegt.

4. Diskussion

a) Bowmansche Drüsenzelle

Die fingerförmigen Ausstülpungen des Plasmalemm der Bowmanschen Drüsenzelle verzahnen benachbarte Drüsenzellen miteinander. Ihr Auftreten an der Basis der Drüsenzelle könnte stoffwechselbedingte Gründe haben, da der Gehalt an glattem oder rauhem endoplasmatischem Retikulum und der Reichtum an Mitochondrien in Plasmalemmnähe auf hohe Stoffwechselaktivität der Bowmanschen Drüsenzellen schließen lassen, und folglich dem Plasmalemma eine große Bedeutung als Stoffwechselbarriere zwischen intra- und extrazellulärem Raum zukommt. Zur Aufnahme von Molekülen ist eine große Oberfläche des Plasmalemm notwendig, die durch fingerförmige Ausstülpungen gegeben ist.

Das Plasmalemma im Bereich der Ausführungsgänge bildet Mikrovilli, die das aus den Drüsenzellen ausgeschleuste Sekret zum Epithel der Riechschleimhaut transportieren könnten.

Das bei einem neunjährigen Beagleweibchen gefundene, extrem erweiterte, raue endoplasmatische Retikulum stellt sicher eine Ausnahme dar und ist als Folge eines pathologischen Sekretstaues in der Zelle zu werten. Bei diesem Hund lagen auch altersbedingt krinophagische Zelldetritusablagerungen in den Drüsenzellen vor.

b) Glatte Muskelzelle

Die elektronenmikroskopischen Bilder der Riechschleimhaut zeigen Zellen, die außerhalb der Basallamina der Bowmanschen Drüsen

liegen und netzartig die Lamina propria durchziehen. Sie enthalten Befestigungsplatten, mikropinozytotische Vesikel und Myofilamente, sind also aufgrund ihrer Ultrastruktur eindeutig als glatte Muskelzellen zu identifizieren.

Die von MORAN et al. 1982 gefundene und als Myoepithelzelle interpretierte Zelle in der Riechschleimhaut des Menschen liegt direkt den Drüsenzellen an. Die Basallamina der Drüse umgibt sie zusammen mit den Drüsenzellen.

Eine Myoepithelzelle konnte in der Riechschleimhaut des Hundes nicht gefunden werden. Möglicherweise handelt es sich um ein Charakteristikum der menschlichen Riechschleimhaut. Im elektronenmikroskopischen Bild sind sehr viel mehr glatte Muskelzellen zu finden als sich mit Hilfe der Immunhistochemie mit Desmin-Antiserum darstellen lassen. Schon ALTMANNBERGER et al., 1981 beschrieben, daß Formaldehyd die Antigenstruktur des Gewebes zerstören kann und eine entsprechend verminderte positive Reaktion bei Formaldehydfixierung zu erwarten ist. Sie schlagen stattdessen die Fixierung der Gewebeproben in Alkohol vor. In unseren Voruntersuchungen konnten wir jedoch keinen qualitativen Unterschied zwischen alkohol- und formaldehydfixierten Schnitten feststellen.

Verschiedene Autoren verwendeten für den Nachweis von Desmin-Antigenen Cryostatschnitte und konnten mit dieser Methode gute Ergebnisse erzielen (CASELITZ et al., 1981; OSBORN und WEBER, 1983; OSBORN et al., 1981 und SCHMID et al., 1982). Cryostatschnitte der Riechschleimhaut anzufertigen, ist bei einem so empfindlichen Gewebe aus technischen Gründen schwierig. Aufgrund der bei unseren Versuchen erhaltenen Anfärbbarkeit der

Arteriolenwände mit Desmin-Antiserum in formalinfixiertem und paraffineingebettetem Material läßt sich ein Verlust der Antigenität für Desmin durch die Bearbeitung der Proben ausschließen.

Der Desmingehalt im Verlauf der Aortenmedia wurde 1981 von OSBORN et al. untersucht. Diese Untersucher konnten eine Zunahme der positiven Reaktion mit Desmin-Antikörpern nach distal nachweisen. Sie vermuteten, daß elastin-reiche Arterienabschnitte im Gegensatz zu den vorwiegend glatt-muskulären Abschnitten relativ wenig Desmin enthalten. So könnte die geringe Anzahl Desmin-positiver Reaktionsstellen in der Lamina propria der Riechschleimhaut für Elastizität dieses Gewebes sprechen. Die Ausstattung der Lamina propria mit zahlreichen Elastinfasern und glatten Muskelzellen spricht ebenfalls für die elastische Ausstattung der Riechschleimhaut. Möglicherweise haben die glatten Muskelzellen die Funktion, durch Kontraktion das Drüsensekret an die Oberfläche der Riechschleimhaut zu transportieren, was wiederum Elastizität des Gewebes voraussetzt. Ausgelöst dürfte diese Kontraktion durch Impulse vegetativer Axone werden, die -wie Abb. 11 zeigt- in enger räumlicher Beziehung sowohl zu Drüsenzellen als auch zu glatten Muskelzellen stehen.

c) Sensible Nervenfasern

Die trigeminalen myelinisierten Nervenfasern konnten mit Hilfe des Elektronenmikroskopes nur in geringer Zahl in der Lamina

propria gefunden werden. Diese Tatsache steht im Widerspruch zur Bedeutung des N. trigeminus sowohl im sensiblen als auch im sensorischen Bereich.

BOUVET et al. konnten 1987 den trigeminalen Neurotransmitter Substanz-P nicht nur in der Lamina propria nachweisen, sondern auch sein Vorkommen im darüberliegenden Riechepithel. Das konnte erklären, warum elektronenmikroskopisch keine freien Nervenendigungen in der Lamina propria gefunden werden konnten. Da die Beteiligung des N. trigeminus bei der Sensorik von niedermolekularen Geruchsstoffen und Gerüchen in nicht-ätzenden Konzentrationen nachgewiesen wurde (HUGHES und MAZUROWSKI, 1962 a und b; KULLE und COOPER, 1975; DAWSON, 1962), sollten NICKEL et al. ihre Auffassung von der "rein sensiblen" Innervation der Riechschleimhaut durch den N. ethmoidalis als Ast des N. trigeminus revidieren.

Die Wahrnehmung von Geruchsstoffen durch den N. trigeminus kann nicht isoliert von der Wahrnehmung durch den N. olfactorius und die Nerven des Septalorgans und Organon vomero-nasale betrachtet werden. Die Interaktion der oben genannten nervösen Bestandteile der Riechschleimhaut könnte -wie PARKER bereits vorgeschlagen hat- als "common chemical sense" bezeichnet werden, wenngleich sich die Systeme auf die Wahrnehmung einzelner Geruchskomponenten z.B. ätzende Geruchsstoffe durch den N. trigeminus oder Pheromone durch den N. terminalis "spezialisiert" haben.

Durch die sich ergänzenden Funktionen des trigeminalen, olfaktorischen und vegetativen Nervensystems ist es nur

verständlich und baulich ökonomisch, daß die Systeme zu einem gemischten Nerven verbunden werden können. Dadurch kann ein Informationsaustausch, der sicher vorhanden ist, aber noch nachzuweisen wäre, erleichtert werden.

Die Feinstruktur der Lamina propria der Riechschleimhaut des Hundes wurde mit Hilfe der Elektronenmikroskopie und Immunhistochemie untersucht.

a) Bowmansche Drüsenzellen

Bei den Drüsenzellen der Lamina propria der Riechschleimhaut können zwei Zelltypen nach ihrem Gehalt an rauhem und glattem endoplasmatischem Retikulum sowie der Elektronendichte ihres Zytoplasmas unterschieden werden.

Eine eigentümliche Oberflächenvergrößerung des Plasmalemm wird bei beiden Zelltypen gefunden.

b) Glatte Muskelzellen

Zahlreiche Zellen in der Lamina propria weisen sich durch ihre Myofilamente und deren Befestigungsplatten sowie durch mikropinozytotischen Vesikel im Plasmalemm als kontraktile Zellen aus. Die integrierten Intermediärfilamente können immunhistochemisch durch spezifische Antikörper als Desminfilamente markiert werden.

Die kontraktile Zellen können nach ihrer Lage außerhalb der Bowmanschen Drüsenzelle eindeutig als glatte Muskelzellen identifiziert werden. Demgegenüber würden Myoepithelzellen innerhalb einer gemeinsamen Basallamina liegen. Es gibt somit keinen Hinweis auf das Vorkommen von Myoepithelzellen in der

Riechschleimhaut des Hundes.

c) Nervenfasern des N. trigeminus

Trigeminale, myelinisierte Nervenfasern werden nur vereinzelt in der Lamina propria gefunden. Sie treten zusammen mit olfaktorischen und vegetativen Fasern in einem Nervenbündel auf.

d) Vegetative Nervenfasern

Mit Hilfe der Elektronenmikroskopie ist es nicht möglich sympathische von parasympathischen Nervenfasern zu unterscheiden. Es gibt strukturelle Unterschiede zwischen den Hüllzellen von vegetativen, olfaktorischen und sensiblen Nervenfasern. Sogenannte "polyaxonale Remakzellen" umschließen einzeln die Nervenfasern in ihrem Zytoplasma. Um Transmittervesikel abgeben zu können, werden die einhüllenden Zytoplasmafortsätze zurückgezogen. Nun liegt die Axonoberfläche entblößt vor, und ein Informationsaustausch durch Transmitter kann stattfinden.

d) Räumliche Beziehung der Zellen

Die Muskel- und Drüsenzellen und Nervenbündel der Lamina propria der Riechschleimhaut liegen in unmittelbarer räumlicher Nachbarschaft zueinander, wobei die Muskelzellen ein dreidimensionales Netz um die Drüsenzellen aufbauen. Beide Zellarten werden in ihrer Funktion durch vegetative Innervation beeinflusst.

ELECTRON MICROSCOPICAL AND IMMUNHISTOCHEMICAL STUDIES OF THE
LAMINA PROPRIA OF THE OLFACTORY MUCOSA IN DOG.

The microstructure of the lamina propria of the canine olfactory mucosa was studied electron microscopically complemented by immunohistochemistry.

a) Bowman's glandular cells

The glandular cells of the lamina propria of the olfactory mucosa are classified into two types differing in the amounts of rough and smooth endoplasmatic reticulum and electron density of the cytoplasma.

A very special enlargement of the plasmalemmal surface is to be found in both types.

b) Smooth muscle cells

Many cells in the Lamina propria are identified as contractile ones, possessing dense plaques and micropinocytotic vesicles in the plasmalemma as well as dense bodies and filaments in the cytoplasma.

An "intermediate" filament type associated with the myofilaments can be marked by Desmin-antibodies.

These cells can be recognized as true smooth muscle cells, because they are -unlike myoepithelial cells- not covered by the

basal lamina of the Bowman's gland.

Thus there are no signs for the existence of myoepithelial cells in the canine olfactory mucosa.

c) Trigeminal nerve fibers

Trigeminal. myelinated nerve fibers are in general rare occurrences in the lamina propria. As far as observed they are combined with olfactory and vegetative fibers as one common nerve bundle.

d) Vegetative nerve fibers

By electron microscopy it is not possible to define sympathetic and parasympathetic nerve fibers. There are differences in the structure of sheath cells between vegetative, olfactory, and sensitive nerve fibers. Socalled "polyaxonal Remak cells" may include singularly vegetative nerve fibers in their cytoplasm. For the release of transmitter substances the nerve surrounding cytoplasmic processes are removed from the axonal surface. Herewith an exchange of information by transmitters can take place.

d) Spatial relationship between the cells

The muscle, glandular cells, and nerve bundles of the olfactory mucosal lamina propria are integrated in a close spatial neighbourhood to each other. The muscle cells build up a three-

dimensional network around the Bowman's glands. Both cells, the glandular as well as the muscular, obviously depend in their function on vegetative nerve actions.

7. Literaturverzeichnis

1) ALARIE, Y.:

Irritating properties of airborne materials to the upper respiratory tract.

Arch. Envir. Health. 13: 433-449 (1966)

2) ALARIE, Y.:

Sensory irritation of the upper airways by airborne chemicals.

Toxicol. Appl. Pharmacol. 24: 279-297 (1973)

3) ALLEN, W.F.:

Effect on respiration. blood pressure and carotid pulse of various inhaled and insufflated vapors when stimulating one cranial nerve and various combinations of cranial nerves.

Amer. J. Physiol. 88: 117-129 (1929)

4) ALLEN, W.F.:

Olfactory and trigeminal conditioned reflexes in dogs.

Am. J. of Physiol. 118: 532-540 (1937)

5) ALTMANNBERGER, M., J.U. ALLES, H. FITZ, G. JUNDT und M. OSBORN:

Mesenchymale Tumormarker.

Verh. Dtsch. Ges. Path. 70: 51-63 (1986)

- 6) ALTMANNNSBERGER. M., M. OSBORN. A. SCHAUER und K. WEBER:
Antibodies to different intermediate filament proteins: cell
type-specific markers on paraffin-embedded human tissues.
Lab. Invest. 45 (5): 427-434 (1981)
- 7) ALTMANNNSBERGER. M., M. OSBORN. J. TRENNER. A. HÖLSCHER.
K. WEBER und A. SCHAUER:
Diagnosis of human childhood rhabdomyosarcoma by antibodies
to desmin, the structural protein of muscle specific
intermediate filaments.
Virchows Arch. (Cell Pathol) 39: 203-215 (1982)
- 8) ANDERSEN. P.:
Inhibitory reflexes elicited from the trigeminal and
olfactory nerves in rabbits.
Acta Physiol. Scand. 30: 137-148 (1953)
- 9) ANDERSEN. R.K., J.P. LUND. and E. PUIL:
Enkephalin and substance P effects related to trigeminal
pain.
Can. J. Physiol. Pharmacol. 56: 216-222 (1978)
- 10) ANDERTON. B.H.:
Intermediate filaments: a family of homologous structures.
Journal of Muscle Research and Cell Motility 2: 141-166
(1981)

- 11) BAIN, A.:
The senses and the intellect.
Longmans Green. London (1868) (zitiert durch CAIN und MURPHY, 1980)
- 12) BARGMANN, W.:
Histologie und Mikroskopische Anatomie des Menschen.
7. überarb. Auflage. Stuttgart: Thieme. (1977)
- 13) BOJSEN-MØLLER, F.:
Topography of the nasal glands in rats and some other mammals.
Anat. Rec. 150. 11-24 (1964)
- 14) BOURNE, J.A.:
Handbook of immunoperoxidase staining methods.
Immunocytochemistry Laboratory DAKO CORPORATION (1983)
- 15) BOUVET, J.F., F. GODINOT, S. CROZE und J.C. DELALTEU:
Trigeminal substance P-like immunoreactive fibres in the frog olfactory mucosa.
Chemical Senses 12 (3): 499-505 (1987)
- 16) BRUNN, A. von:
Beiträge zur mikroskopischen Anatomie der menschlichen Nasenhöhle.
Arch. Mikr. Anat. 39: 632 (1892) (zitiert durch P.P.C. GRAZIADEI, 1973)

17) CAIN, W.S.:

Contribution of the trigeminal nerve to perceived odor magnitude.

Ann. N. Y. Acad. Sci. USA 237: 28-34 (1974)

18) CAIN, W.S. und C.L. MURPHY:

Interaction between chemoreceptive modalities of odour and irritation.

Nature 284: 255-257 (1980)

19) CASELITZ, J., M. OSBORN, G. SEIFERT und K. WEBER:

Intermediate-Sized Filament Proteins (Prekeratin, Vimentin, Desmin) in the Normal Parotid Gland and Parotid Gland Tumours.

Virchows Arch. (Pathol. Anat.) 393: 273-286 (1981)

20) CORRIOL, J., J.J. ROHNER und J. FONDARAI:

Origine et signification de la bradycardie chez le plongeur en apnée.

Path. biol. 14: (23-24): 1185-1191 (1966)

21) CUVIER, G.:

Leçons d'anatomie comparée.

recueillies et publiée par G. Duméril (8 Bd. 1. Ausg. Baudouin. Paris. 1799-1805). 2nd édit. corrigée et augmentée. Crochard. Paris et Masson. Paris (1835-1846), T. 3, Masson, Paris (1845). (zitiert durch SEIFERT. 1969)

- 22) DAWSON. W.W.:
Chemical stimulation of the peripheral trigeminal nerve.
Nature 196: 341-345 (1962)
- 23) DIEMERBROECK, de und ISBRANDUS:
Anatome corporis humani.
Ultrajecti (1672) (zitiert durch SEIFERT. 1969)
- 24) DOERR. W.:
Georg Büchner als Naturforscher.
aus: Problemgeschichte kritischer Fragen. Hrsg.: W. Doerr,
G.B. Gruber. Springer. Berlin. Heidelberg. New York. London.
Paris. Tokyo (1987)
- 25) DOTY. R.L.:
Intranasal trigeminal detection of chemical vapors by
humans.
Physiol. Behav. 14: 855-859 (1975)
- 26) DOTY. R.L., W.E. BRUGGER, P.C. JURS, M.A. ORNDORFF, P.F.
SNYDER und L.D. LOWRY:
Intranasal trigeminal stimulation from odourous volatiles:
psychometric responses from anosmic and normal humans.
Physiol. Behav. 20: 175-185 (1978)
- 27) ELSBERG. C.A., H. SPÖTNITZ und E.I. STRONGIN:
The olfactory-parotid reflex.
Arch. Neurol. Psychiatr. 47: 707-717 (1942)

28) FRANK. E.D. und L. WARREN:

Aortic smooth muscle cells contain vimentin instead of desmin.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78 (5): 3020-3024 (1981)

29) FRANKENHAEUSER. B. und A. LUNDERVOLD:

A note on an inhibitory reflex from the nose on the rabbit.

Acta Physiol. Scand. 18: 238-242 (1949)

30) FOLKOW. B., C. HEYMANS und E. NEIL:

Integrated aspects of cardiovascular regulation.

Handbook of Physiology, Sec 2: Circulation Vol. 3. Am. Physiol. Society Washington D.C. (1965)

31) FRENCH. S.W.:

Role of canalicular contraction in bile flow.

Lab. Invest. 53 (3): 245-249 (1985)

32) GABBIANI. G., E. SCHMID. S. WINTER. C. CHAPPONNIER. C.

de CHASTONAY. J. VANDEKERCKHOVE. K. WEBER und W.W. FRANKE:

Vascular smooth muscle cells differ from other smooth muscle cells: predominance of vimentin filaments and a specific α -type actin.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78 (1): 298-302 (1981)

33) GARD, D.L., P.B. BELL und E. LAZARIDES:

Coexistence of desmin and the fibroblastic intermediate filament subunit in muscle and nonmuscle cells: identification and comparative peptide analysis.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76 (8): 3894-3898 (1979)

34) GEISLER, N., E. KAUFMANN und K. WEBER:

Proteinchemical characterization of three structurally distinct domains along the protofilament unit of desmin 10 nm filaments.

Cell 30: 277-286 (1982)

35) GEISLER, N. und K. WEBER:

Comparison of the proteins of two immunologically distinct intermediate-sized filaments by amino acid sequence analysis: desmin and vimentin.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78 (7): 4120-4123 (1981)

36) GRAZIADEI, P.P.C.:

The ultrastructure of vertebrates olfactory mucosa.

In: FRIEDMANN: The Ultrastructure of Sensory Organs.

North Holland Publishing Company, Amsterdam-London (1973)

- 37) HAFNER, A.:
Elektronenmikroskopische und immunhistochemische
Untersuchung der neuralen Elemente der Riechschleimhaut des
Hundes und lichtmikroskopische und immunhistochemische
Charakterisierung spontaner Riechschleimhauttumoren bei Hund
und Katze.
Med. Vet. Diss. (1987)
- 38) HUGHES, J.R. und J.A. MAZUROWSKI:
Studies on the supracallosal mesial cortex of
unanesthetized, conscious mammals.
II. Monkey. B. Responses from the Olfactory Bulb.
Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 14: 635-645 (1962 a)
- 39) HUGHES, J.R. und J.A. MAZUROWSKI:
Studies on the supracallosal mesial cortex of unanesthetized
conscious mammals.
II. Monkey. C. Frequency Analysis of Responses from the
Olfactory Bulb.
Electroenceph. Clin. Neurophysiol. 14: 646-653 (1962 b)
- 40) ISHII, T.:
The cholinergic innervation of the human nasal mucosa. A
histochemical study.
Pract. oto-rhino-laryng. 32: 153-158 (1970)

- 41) ISHII, T. und M. TORIYAMA:
Acetylcholinesterase activity in the vasomotor and secretory
fibers of the nose.
Arch. Klin. exp. Ohr.- Nas.-u. Kehlk.Heilk. 201: 1-10 (1972)
- 42) JAMES, J.F., und M. de B. DALY:
Nasal reflexes.
Proc. Roy. Soc. Med. 62: 1287-1293 (1969)
- 43) JAVORKA, K. und Z. TOMORI:
Effect of synpatholytic agents on cardiovascular,
respiratory and g.ottal changes during the apnoeic reflex of
nasal origin.
Physiol. Bohemoslov. 21: 517-525 (1972)
- 44) KRSTIC, R.V.:
Die Gewebe des Menschen und der Säugetiere.
Korrigierter Nachdruck der ersten Auflage. Berlin,
Heidelberg, New York: Springer (1982)
- 45) KERR, D.I.B. und K.E. HAGBARTH:
An investigation of olfactory centrifugal fiber system.
J. Neurophysiol. 18: 362-374 (1955)
- 46) KULLE, T.J. und G.P. COOPER:
Effects of formaldehyd and ozone on the trigeminal nasal
sensory system.
Arch. Environ. Health 30: 237-243 (1975)

47) LEONHARDT, H.:

Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen.

6. überarbeitete und erweiterte Auflage. Stuttgart-New York:

Thieme (1981)

48) LAZARIDES, E.:

Intermediate filaments as mechanical integrators of cellular space.

Nature 283: 249-256 (1980)

49) LAZARIDES, E. und D.R. BALZER:

Specificity of desmin to avian and mammalian muscle cells.

Cell 14: 429-438 (1978)

50) LAZARIDES, E. und B.D. HUBBARD:

Immunological characterisation of the subunit of the 100 Å filaments from muscle cells.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA 73 (12): 4344-4348 (1976)

51) LEMBECK, F. und P. HOLZER:

Substance P as neurogenic mediator of antidromic vasodilation and neurogenic plasma extravasation.

Neunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 310: 175-183 (1979)

52) MAGENDIE. F.:

Le nerf olfactif est-il l'organe de l'odorat? Expériences sur cette question.

J. physiol. expér. 4: 169-176 (1824a) (zitiert durch SEIFERT, 1969)

53) MAGENDIE. F.:

De l'influence de la cinquieme paire de nerfs sur la nutrition et les fonctions de l'oeil.

J. physiol. expér. 4: 176-182 (1824b) (zitiert durch SEIFERT, 1969)

54) MAGENDIE. F.:

Suite des expériences sur les fonctions de la cinquieme paire de nerfs.

J. physiol. exper. 4: 302-315 (1824c) (zitiert durch SEIFERT, 1969)

55) MALCOMSON. K.G.:

The vasomotor activities of the nasal mucous membrane.

J. Laryng. Otol. 73: 73-98 (1959)

56) MCRITCHIE. R.J. und S.W. WHITE:

Role of trigeminal, olfactory, carotid sinus and aortic nerves in the respiratory and circulatory response to nasal inhalation of cigarette smoke and other irritants in the rabbits.

Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci 52: 127-140 (1974)

- 57) MERY, J.:
Progrès de la médecine.
zit. b. Haller (1763). 174 (zitiert durch SEIFERT, 1969)
- 58) MORAN, D.T., J.C. ROWLEY, B.W. JAFEK and M.A. LOVELL:
The fine structure of the olfactory mucosa in man.
Journal of Neurocytology 11: 721-746 (1982)
- 59) NICKEL, R., A. SCHUMMER und E. SEIFERLE:
Lehrbuch der Anatomie der Haustiere. Band IV.. Nervensystem-
Sinnesorgane- Endokrine Drüsen.
Berlin-Hamburg: Paul Parey (1975)
- 60) OSBORN, M., J. CASELITZ und K. WEBER:
Heterogeneity of intermediate filament expression in
vascular smooth muscle: a gradient in desmin positive cells
from the rat aortic arch to the level of the Arteria Iliaca
Communis.
Differentiation 20: 196-202 (1981)
- 61) OSBORN, M. und K. WEBER:
Biology of disease: tumor diagnosis by intermediate
filament typing: a novel tool for surgical pathology.
Lab. Invest. 48 (4): 372-394 (1983)

- 62) OTSUKA, M. und S. KONISHI:
Substance P and excitatory transmitter of primary sensory neurons.
Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 40: 135-143 (1977)
- 63) PAPKA, R.E. und D.H. MATULIONIS:
Association of substance-P-immunoreactive nerves with the murine olfactory mucosa.
Cell Tissue Res. 230: 517-525 (1983)
- 64) PARKER, G.H.:
Smell, taste and allied senses in vertebrates.
Lippincott, Philadelphia, PA. USA (1922)
- 65) PARKER, G.H.:
The reactions of smell, taste and the common chemical sense in vertebrates.
J. Acad. Natl. Sci. Philadelphia: 221-234 (1912)
- 66) PAULSEN, E.:
Über die Drüsen der Nasenschleimhaut, besonders die Bowman'schen Drüsen.
Arch. Mikrosk. Anat. 26: 307-321 (1886)
- 67) PRAH, J.D. und V.A. BENIGNUS:
Trigeminal sensitivity to contact chemical stimulation: a new method and some results.
Perception & Psychophysics 35 (1): 65-68 (1984)

- 68) RAMAEKERS. F.C.S., J.J.G. PUTS. O. MOESKER. A. KANT. A.
 HUYSMAN. D. HAAG. P.H.K. JAP. C.J. HERMAN und G.P. VOOLJS:
 Antibodies to intermediate filament proteins in the
 immunohistochemical identification of human tumours: an
 overview.
 Histochemical Journal 15: 691-713 (1982)
- 69) RAPP. W.:
 Die Verrichtungen des funften Hirnnervenpaares.
 Leipzig. (1832) (zitiert durch SEIFERT. 1969)
- 70) SCHMID. E., M. OSBORN. E. RINGGER-BRANDLE. G. GABBIANI,
 K. WEBER und W.W. FRANKE:
 Distribution of vimentin and desmin filaments in smooth
 muscle tissue of mammalian and avian aorta.
 Exp. Cell Res. 137: 329-430 (1982)
- 71) SEIFERT. K.:
 Geschichte und Bibliographie der Erforschung des peripheren
 Geruchsorgans.
 Clinica Medica 4: 305-337 (1969)
- 72) SEIFERT. K.:
 Die Ultrastruktur des Riechepithels beim Makrosomatiker.
 Normale und pathologische Anatomie. Monographien in
 zwangloser Folge. Heft 21. Hrsg.: BARGMANN und DOERR.
 Stuttgart: Thieme (1970)

73) SEIFERT. K.:

Neue Ergebnisse licht- und elektronenmikroskopischer Untersuchungen am peripheren Geruchsorgan einschließlich der Bowmanschen Drüsen und des Organen vomero-nasale.

Acta Oto-Rhino-Laryngologica Belgica 26: 463-492 (1972)

74) SMALL, J.V. und A. SOBIESZEK:

Studies on the function and composition of the 10-nm (100 Å) filaments of vertebrate smooth muscle.

J. Cell. Sci. 23: 243-268 (1977)

75) SILVER, W.L. und J.A. MARUNIAK:

Trigeminal chemoreception in the nasal and oral cavities.

Chemical Senses 6 (4): 295-305 (1981)

76) SILVER, W.L., J.R. MASON, D.A. MARSHALL und J.A. MARUNIAK:

Rat trigeminal, olfactory and taste responses after capsaicin desensitization.

Brain Research 333: 45-54 (1984)

77) SILVER, W.L. und D.G. MOULTON:

Chemosensitivity of rat nasal trigeminal receptors.

Physiology & Behavior 28: 927-931 (1982)

78) STONE, H., E. CARREGAL und B. WILLIAMS:

The olfactory-trigeminal response to odorants.

Life Sciences 5: 2195-2201 (1966)

- 79) STONE. H. und C.S. REBERT:
Observations on trigeminal olfactory interactions.
Brain Research 21: 138-142 (1970)
- 80) STONE. H., B. WILLIAMS und E.CARREGAL:
The role of the trigeminal nerve in olfaction.
Experimental Neurology 21: 11-19 (1968)
- 81) TENNER. I.G.:
De organi olfactus differentia.
Diss. inaug. Lipsiae (1777) (zitiert durch SEIFERT. 1969)
- 82) TODD. R.B. und W. BOWMAN:
The physiological anatomy and physiology of man.
Chapter XVI. 2: 1-13 (1847-1856) London: Parker
- 83) WALKER. J.C., D. TUCKER und J.C. SMITH:
Odor sensitivity mediated by the trigeminal nerve in the
pigeon.
Chemical Senses and Flavour 4 (2): 107-116 (1979)
- 84) WATANABE. S., C.R. SMITH und M.J. PHILLIPS:
Coordination of the contractile activity of bile caniculi.
evidence from calcium microinjection of triplet hepatocytes.
Lab. Invest. 53 (3): 275-279 (1985)

8. Lebenslauf

23. Oktober 1961 geboren in Titisee-Neustadt
Eltern: Eberhard Keller und Elsbeth Keller
geb. Langheimer

1967-1972 Besuch der Hansjakob-Grundschule in Titisee-Neustadt

1972-1981 Besuch des Kreisdgymnasiums Hochschwarzwald in Titisee-Neustadt

1981-1986 Tiermedizinisches Studium an der Ludwig-Maximilians-Universität München

Januar 1987 Approbation als Tierarzt

September 1987 Eheschließung mit Bernhard K. Gindert

seit April 1988 Mitarbeiterin in der Kleintierklinik Dr. Gutbrod in Nürnberg

Herrn Prof. Dr. E. Dahme danke ich für die Überlassung des
Dissertationsthemas und die Betreuung der Arbeit.

Ganz besonders möchte ich Frau Dr. A. Hafner für die allzeit
gewährte Unterstützung und ihre kollegiale Zusammenarbeit danken.

Frl. Hebel. Frl. Martin. Frl. Hofmann. Herrn Tauscher und Fr.
Siebert danke ich für ihre technische Hilfe.

Auch Günther Ertl sei für seine Hilfe gedankt.

